

**Inflammatorische, morphologische und funktionelle
Veränderungen in einem Rattenmodell des
ventilatorinduzierten Lungenversagens**

**Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)**

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

**von
Christian Niemann
geboren am 06.02.1974
in Jena**

Inhaltsverzeichnis:

Einführung	4
1. Das ventilatorinduzierte Lungenversagen	5
1.1. Durch Druck und Volumen bedingte Veränderungen	5
1.1.1. Barotrauma-Vorhandensein von extraalveolärer Luft	5
1.1.2. Volutrauma-Lungenschädigung durch hohe Atemzugvolumina	6
1.1.3. Atelektrauma-Lungenschädigung durch Scherkräfte	8
1.2. Biotraumatische Veränderungen	8
1.2.1. Mechanotransduktion	8
1.2.2. Ventilatorinduzierte inflammatorische Prozesse	9
1.3. Fragestellung	12
2. Material und Methoden	13
2.1. Versuchstiere	13
2.2. Studiendesign	13
2.3. Narkose	15
2.4. Muskelrelaxation	16
2.5. Präparation der Halsgefäße	16
2.6. Flüssigkeitssubstitution	17
2.7. Antikoagulation	18
2.8. Präparation der Luftwege, Anschluß an den Respirator	18
2.9. Management der Beatmung	19
2.10. Messung der respiratorischen und hämodynamischen Parameter	21
2.11. Gewinnung und Aufarbeitung der Proben	22
2.12. Meßmethoden	23
2.12.1. Blutgase	23
2.12.2. Messung der Zellzahl von Blut und BAL	24
2.12.3. Messung der statischen Compliance der Lunge	24
2.12.4. Messung der Zytokinkonzentration in Serum und BAL	25
2.12.5. Messung der Proteinkonzentration in der BAL	26
2.13. Statistische Auswertung	26

3.	Ergebnisse	27
3.1.	Ergebnisse der Kurzzeitstudie	27
3.1.1.	Zustand der Versuchstiere nach der Beatmung	27
3.1.2.	Hämodynamische Parameter während der Beatmung	27
3.1.3.	Arterielle Blutgase während der Beatmung	28
3.1.4.	Statische Compliance der Lungen	30
3.1.5.	Anzahl neutrophiler Granulozyten im Blut vor und nach 4 Stunden Beatmung	30
3.1.6.	Anzahl neutrophiler Granulozyten in der BAL nach 4 Stunden Beatmung	31
3.1.7.	IL-6-Konzentrationen in Serum und BAL nach 4 Stunden Beatmung	32
3.1.8.	TNF- α -Konzentrationen in Serum und BAL nach 4 Stunden Beatmung	33
3.1.9.	Proteinkonzentration in der BAL nach 4 Stunden Beatmung	34
3.1.10.	Histologische Veränderungen an der Lunge nach 4 Stunden Beatmung	34
3.2.	Ergebnisse der Langzeitstudie	35
3.2.1.	Befinden der linkshyperventilierten Tiere innerhalb von 24 Stunden nach der Beatmung	35
3.2.2.	Befinden der beidseits normoventilierten Tiere innerhalb von 24 Stunden nach der Beatmung	35
3.2.3.	Hämodynamische Parameter während der Beatmung	36
3.2.4.	Arterielle Blutgase während und 24 Stunden nach Beatmung	37
3.2.5.	Anzahl neutrophiler Granulozyten im Blut vor und 24 Stunden nach Beatmung	38
3.2.6.	Anzahl neutrophiler Granulozyten in der BAL 24 Stunden nach Beatmung	39
3.2.7.	IL-6- und TNF- α -Konzentrationen im Serum 24 Stunden nach Beatmung	40
3.2.8.	IL-6-Konzentration in der BAL 24 Stunden nach Beatmung	41
3.2.9.	TNF- α -Konzentration in der BAL 24 Stunden nach Beatmung	42
3.2.10.	Proteinkonzentration in der BAL 24 Stunden nach Beatmung	43

4.	Diskussion	44
4.1.	Kurzzeitstudie	44
4.2.	Langzeitstudie	49
4.3.	Vergleich der Ergebnisse der Kurzzeit- und Langzeitstudie	51
5.	Zusammenfassung	53
	Literaturverzeichnis	55

Einführung

Die mechanische Ventilation ist ein wesentlicher Bestandteil der modernen Intensivtherapie. Sie dient der Überbrückung eines Zustandes, in dem die Atmungsfunktion des Patienten kritisch eingeschränkt ist und zur Aufrechterhaltung der Vitallfunktionen nicht ausreicht. In diesem Sinne hat die mechanische Ventilation einen eindeutig positiven Effekt. Allerdings ist die mechanische Ventilation nicht frei von Nebenwirkungen. Hierzu zählen hämodynamische Veränderungen aufgrund des positiven intrapulmonalen Drucks, ventilatorassoziierte Pneumonie und das ventilatorinduzierte Lungenversagen.¹ Thema dieser Arbeit ist das ventilatorinduzierte Lungenversagen.

Tabelle 1. *Nebenwirkungen der mechanischen Ventilation*

- **Hämodynamische Veränderungen**
 - **Ventilatorassoziierte Pneumonie**
 - **Barotrauma**
 - **Ventilatorinduziertes Lungenversagen**
-

Die Tatsache, daß mechanische Ventilation auch Lungenversagen hervorrufen kann, wurde zwar seit längerer Zeit vermutet, die pathophysiologischen Zusammenhänge waren jedoch weitestgehend unklar. Noch vor einigen Jahren wurde der Beatmungsdruck für alle während der mechanischen Beatmung aufgetretenen pathologischen Veränderungen verantwortlich gemacht. Diese Veränderungen wurden unter dem Begriff Barotrauma subsumiert. Neuere Erkenntnisse zeigen, daß eine Überdehnung der Alveolen und die Entwicklung von Scherkräften, insbesondere bei repetitivem Alveollarkollaps die verantwortlichen mechanischen Faktoren bei der Entwicklung des ventilatorinduzierten Lungenversagens darstellen.

Obwohl die mechanischen Faktoren die Traumatisierung von Alveolen initiieren, spielt die nachfolgend entstehende inflammatorische Reaktion bei der Entwicklung des Lungenversagens eine Hauptrolle. Diese inflammatorische Reaktion wird durch Aktivierung und Interaktion von inflammatorischen Mediatoren und Zellen hervorgerufen und aufrechterhalten.

In der folgenden Studie haben wir die Früh- und Spätfolgen der inflammatorischen, morphologischen und funktionellen Veränderungen in zwei Modellen des ventilatorinduzierten Lungenversagens untersucht.

1. Das ventilatorinduzierte Lungenversagen

1.1. Durch Druck und Volumen bedingte Veränderungen

In der Pathophysiologie des ventilatorinduzierten Lungenversagens spielen sowohl mechanische als auch biologische Faktoren eine Rolle. Zu den mechanischen Faktoren zählen Veränderungen durch Beatmungsdruck (Barotrauma), Veränderungen durch Tidalvolumen (Volutrauma) und Veränderungen durch die Entwicklung von Scherkräften, insbesondere in Verbindung mit Atelektasen (Atelektrauma). Diese mechanischen Faktoren führen zu Veränderungen des biologischen Systems der Lunge (Biotrauma), welche nachfolgend die schädigende Wirkung der mechanischen Faktoren verstärken.²

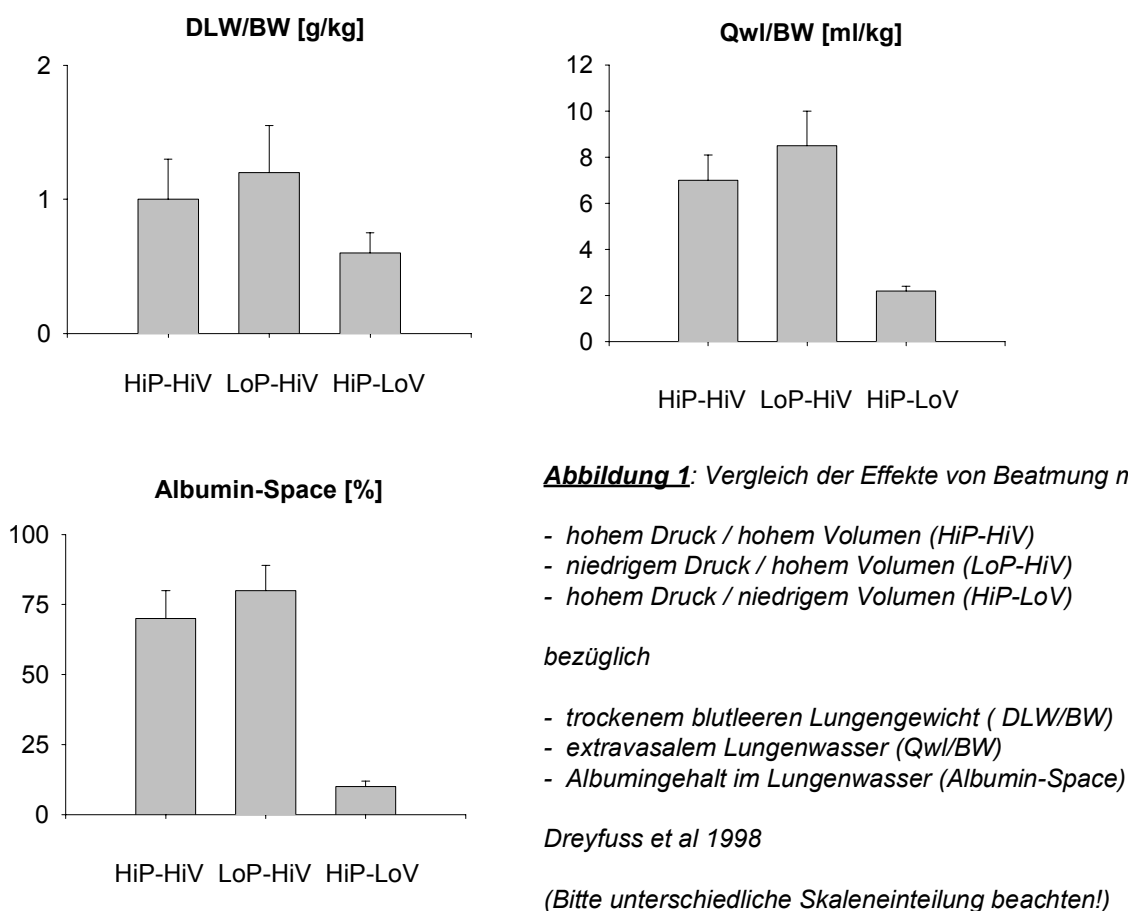
1.1.1. Barotrauma – Vorhandensein von extraalveolärer Luft

Noch vor einiger Zeit wurden unter dem Begriff Barotrauma all jene Veränderungen zusammengefaßt, die durch die z.T. sehr hohen Beatmungsdrücke an der Lunge entstehen. Heute wird unter diesem Begriff lediglich das Vorhandensein von extraalveolärer Luft verstanden. Extraalveoläre Luft führt zu Pneumothorax, Mediastinalemphysem und in der Folge auch zum Hautemphysem. Auch wenn häufig hohe Beatmungsdrücke für diese Veränderungen verantwortlich gemacht werden, ist es nicht klar und durch Studien nicht belegt, daß der hohe Beatmungsdruck notwendigerweise zu extraalveolärer Luft führt. In einer großen Studie konnten Weg et al keinen Zusammenhang zwischen der Höhe des Beatmungsdruckes und der Manifestation eines Barotraumas feststellen.³ Sehr wahrscheinlich spielen Veränderungen des Lungenparenchyms infolge von Lungenversagen, Traumata, oder auch Infektionen bei der Entstehung eines Barotraumas eine grössere Rolle als die Höhe des Beatmungsdrucks. Insofern ist der Begriff Barotrauma nicht ganz gerechtfertigt.

1.1.2. Volutrauma – Lungenschädigung durch hohe Atemzugvolumina

Lange Zeit war man der Auffassung, daß Schäden an der beatmeten Lunge in erster Linie durch die applizierten Drücke entstehen. Man weiß allerdings heute, daß die Beatmungsvolumina einen erheblichen Anteil zu den Veränderungen beitragen. Dieses Mißverständnis entstand dadurch, daß man hohe Drücke in der Regel mit hohen Tidalvolumina appliziert.

Dreyfuss et al beatmeten Ratten jeweils mit hohen und niedrigen Atemzugvolumina aber mit identischen endinspiratorischen Drücken (45 cmH₂O), um die Effekte der Lungendistension und der erhöhten intrathorakalen Drücke zu untersuchen. Niedrig-Volumen-Ventilation wurde erreicht, indem die Thoraxexkursionen der Tiere limitiert wurden. Die Tiere, die mit hohen Atemzugvolumina bei hohen endinspiratorischen Drücken beatmet wurden, entwickelten ein Lungenödem mit ultrastrukturellen Veränderungen im Sinne von Kappilarlecks und hyalinen Membranen. Im Gegensatz dazu wiesen die Tiere, die mit hohen Drücken bei niedrigen Volumina beatmet wurden kein Lungenödem auf. Um weiter zu demonstrieren, daß nicht ausschließlich hohe Atemwegsdrücke zwangsläufig zu einer Permeabilitätsstörung führen, wurden sogar Tiere mit hohen Atemzugvolumina bei intrathorakal negativen Druckverhältnissen im Sinne einer „eisernen Lunge“ beatmet. In diesem Modell entwickelte sich das Lungenödem sogar bei negativen intrathorakalen Drücken.⁴ Um das Ausmaß der Veränderungen noch besser zu beschreiben, wurden nach der Beatmung das Trockengewicht der blutleeren Lunge, das extrazelluläre Lungenwasser und der Albumin Gehalt in der Lunge gemessen. Die höchsten Werte bezüglich der untersuchten Parameter zeigten sich bei der Beatmung mit hohem Volumen bei niedrigem Atemwegsdruck, am geringsten waren die Veränderungen bei Beatmung mit geringem Volumen bei hohem Druck (siehe Abbildung 1).



Hernandez et al untersuchten die Auswirkungen der Beatmung mit drei verschiedenen Atemwegsdrücken (15, 30, 45 cmH₂O) bei unterschiedlichen Lungenvolumina bei Kaninchen, indem die Thoraxexkursion bei den Tieren durch ein Pflaster limitiert wurde. In der Gruppe ohne Volumenrestriktion stieg der Kapillarfiltrationskoeffizient mit steigendem Beatmungsdruck an. Bei den Tieren, bei denen das Atemzugvolumen durch den Pflasterverband limitiert wurde, konnte ein Anstieg des Kapillarfiltrationskoeffizienten sogar in der Gruppe verhindert werden, die mit einem Druck von 45 cmH₂O beatmet wurde.⁵

Diese Studien zeigen, daß die hohen Atemzugvolumina und nicht die hohen Atemwegsdrücke per se für das ventilatorinduzierte Lungenödem verantwortlich sind.

1.1.3. Atelektrauma – Lungenschädigung durch Scherkräfte

Neben hohen Tidalvolumina spielen Scherkräfte in der Entwicklung des ventilatorinduzierten Lungenversagens eine wichtige Rolle. Während der mechanischen Beatmung können Scherkräfte durch zwei Mechanismen zustande kommen. Erstens führt die Beatmung von kranken Lungen nicht zu einer homogenen Belüftung aller Lungenareale. Atelektatische Areale werden nicht ventiliert, gesunde Areale dafür desto stärker. Während der Beatmung entwickeln sich zwischen atelektatischen und ventilierten Alveolen beachtliche Scherkräfte.⁶ Zweitens entwickeln sich Scherkräfte auch beim wiederholten Öffnen und Schließen distaler Luftwege und Alveolen. Es ist wichtig zu realisieren, daß diese Veränderungen sowohl bei hohen als auch niedrigen Atemwegsdrücken oder Tidalvolumina vorkommen können.⁷ Den repetitiven Alveolarkollaps kann man durch die Applikation eines PEEP verhindern. Der optimale PEEP-Wert liegt oberhalb des unteren Inflektionspunktes der Druck-Volumen-Kurve der Lunge, weil wahrscheinlich oberhalb dieses Punktes der Kollaps der distalen Luftwege nicht stattfindet.⁸

1.2. Biotraumatische Veränderungen

1.2.1. Mechanotransduktion

Studien der zurückliegenden Jahre haben gezeigt, daß Mechanotransduktion, d.h. die Umwandlung von mechanischen Stimuli in biochemische und molekulare Veränderungen, bei der Struktur- und Funktionsveränderung von Geweben, einschließlich der Lunge, eine bedeutende Rolle spielen.^{9;10;11} Die während der Beatmung auf die Lunge einwirkenden mechanischen Kräfte führen zur Überdehnung der Alveolen und zu Rissen innerhalb der alveolokapillären Struktur. Die alterierten Alveolar- und Endothelzellen reagieren auf eine solche Schädigung mit einer Freisetzung von Zytokinen. Die auf diesem Wege durch die Ventilation in der Lunge in Gang gesetzte Inflammation kann zu lokalen Gewebeveränderungen führen und sich auch systemisch manifestieren.^{12;13}

Obwohl eine Reihe von Studien die Bedeutung der hohen Tidalvolumina und von Scherkräften in der Entwicklung des Lungenversagens hervorheben, war lange Zeit

unklar, wie Volumenveränderungen oder Scherkräfte zu Permeabilitätserhöhung und Lungenödem führen. Es konnte früh festgestellt werden, daß moderate Erhöhung der hydrostatischen mikrovaskulären Drücke nicht für ultrastrukturelle Veränderungen beim ventilatorinduzierten Lungenversagen verantwortlich sind. Andererseits wurde gezeigt, daß hohe Tidalvolumina oder auch hohe mikrovaskuläre hydrostatische Drücke Löcher oder Risse im Epithel oder der Endothelschicht hervorrufen bzw. vorhandene Poren überdehnen.^{14;15} Während die Verbindung zwischen dem ventilatorinduzierten Lungenversagen und dem „Strech-Pore-Phänomen“ jedoch weitestgehend spekulativ bleibt⁷, haben West et al zeigen können, daß durch erhöhte Atemzugvolumina Risse in der Alveolar- und Kapillaroberfläche hervorgerufen werden. Diese Risse in der Alveolaroberfläche können zur Initiation einer inflammatorischen Reaktion führen und somit als ein Bindeglied zwischen mechanischen Kräften und biologischer Reaktion fungieren.^{16;17;18}

Pugin et al entwickelten ein Ex-vivo-Modell, in dem sie isolierte humane Alveolarmakrophagen, die auf eine elastische Membran aufgetragen wurden, einem Dehnungsreiz aussetzten, der eine Vergrößerung ihrer Zelloberfläche um 12% bewirkte. Diese Arbeitsgruppe stellte dar, daß die Alveolarmakrophagen eine entscheidende Rolle bei der Transduktion des mechanischen Reizes in eine inflammatorische Reaktion spielen, da sie auf den Dehnungsreiz mit der Freisetzung von Zytokinen reagieren. Es fand sich in diesen Zellen ein erhöhter Gehalt an IL-6, IL-8 und TNF- α .

Risse in der Alveolaroberfläche und Überdehnung von Alveolarzellen sind somit zwei mechanische Ereignisse, die eine inflammatorische Reaktion in Gang setzen können.

1.2.2. Ventilatorinduzierte inflammatorische Prozesse

In einem weiteren Ex-vivo-Modell konnten Tremblay et al zeigen, daß verschiedene Beatmungsstrategien zu Veränderungen der Konzentration von inflammatorischen Zytokinen in der bronchoalveolären Lavage führen. Vier verschiedene Beatmungsstrategien mit steigendem Verletzungspotential wurden in einem isolierten nicht-perfundierten Lungenmodell über 4 Stunden angewendet (siehe Abbildung 2). Es wurden die Zytokinkonzentrationen in der Lavage als Schlüsselmodulatoren des Lungenversagens und der Inflammation untersucht. Es zeigte sich, daß hohe

Atemzugvolumina unter der Abwesenheit eines PEEP synergistische Effekte auf die Expression von $\text{TNF-}\alpha$, IL-6 und IL-10 in der Lungenlavage ausüben. Geringer waren diese Veränderungen unter Applikation eines PEEP und geringeren Atemzugvolumens. Eine Surfactant-Inaktivierung könnte sich in den beiden Gruppen ohne PEEP („Zero-PEEP“) durch wiederholte Reexpansion und Kollaps der Alveolen entwickelt haben.¹⁹ Da bekannt ist, daß Surfactant in der Lage ist, die Sekretion und die Aktivität von verschiedenen Zellen, die in die inflammatorische Kaskade involviert sind, zu modulieren, könnte eine Reduktion des funktionellen Surfactants für die erhöhten Zytokinwerte in den „Zero-PEEP-Gruppen verantwortlich sein.“^{20;21} Diese Ergebnisse können derartig interpretiert werden, daß Scherkräfte in Verbindung mit wiederholter Dehnung und Kollaps der Alveolen zur Produktion der inflammatorischen Mediatoren bzw. Zytokine geführt haben. Dabei spielen hohe Atemzugvolumina und die Abwesenheit eines PEEP eine synergistische Rolle.^{19;22;23}

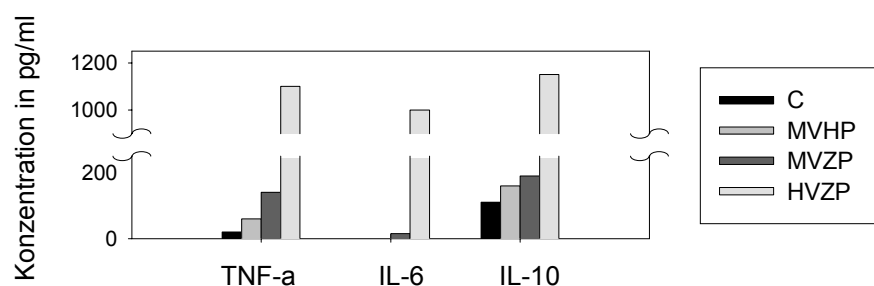


Abbildung 2: Auswirkung unterschiedlicher Beatmungsregime auf die Zytokinkonzentrationen in der Bronchiallavage, Tremblay et al

C	= Kontrollgruppe	$V_t = 7 \text{ ml/kg KG}$; PEEP = 3 cm H_2O
MVHP	= (moderate volume, high pressure)	$V_t = 15 \text{ ml/kg KG}$; PEEP = 10 cm H_2O
MVZP	= (moderate volume, zero peep)	$V_t = 15 \text{ ml/kg KG}$; PEEP = 0
HVZP	= (high volume, zero peep)	$V_t = 40 \text{ ml/kg KG}$; PEEP = 0

(TNF- α : Tumor-Nekrose-Faktor- α ; IL: Interleukin)

Bei der Entstehung und Progression der inflammatorischen Reaktion in der Lunge spielen die neutrophilen Granulozyten eine sehr entscheidende Rolle. In einer prospektiven klinischen Studie haben Donnelly et al die Beziehung zwischen der Konzentration an Neutrophilen-Elastase (einem Enzym, das bei der Degranulation neutrophiler Granulozyten freigesetzt wird) und der Entwicklung von Organversagen

in einem großen Kollektiv polytraumatisierter Patienten untersucht. Lungenversagen wurde anhand der Oxygenierung und Organinsuffizienz unter Hinzuziehung eines Organversagen-Scores definiert. Diese Studie konnte zeigen, daß eine hohe Konzentration an Neutrophilen-Elastase zu einem niedrigen Oxygenierungsindex und einem hohen Organversagen-Score führt.²⁴ Die Tatsache, daß eine hohe Neutrophilenzahl mit der Entstehung eines Lungenversagens einhergeht, wurde auch in weiteren klinischen Studien zum ARDS dargestellt.²⁵

In welchem Maße mechanische Ventilation zur Aktivierung und Einwanderung von neutrophilen Granulozyten führt, wurde bereits von verschiedenen Arbeitsgruppen untersucht. In einer ersten Studie zu diesem Thema konnten Kavano et al in einem Lavage-Modell der Lungenschädigung zeigen, daß konventionelle mechanische Ventilation im Gegensatz zu „High-Frequency-Oscillatory-Ventilation“ zu einer erhöhten Neutrophilenaktivierung und -einwanderung führt, verbunden mit Destruktionen des Alveolarepithels, Erhöhung der Permeabilität und Entwicklung von Lungenödem und hyalinen Membranen. In einer anderen Studie zeigten Kawano et al, daß die Einwanderung der Neutrophilen eine ganz entscheidende Rolle bei der Ausprägung dieser Lungenschädigung spielt: Depletierten sie im gleichen Modell die neutrophilen Granulozyten, blieben in der Gruppe der konventionell beatmeten Tiere die schweren Lungenveränderungen aus. Gleichzeitig verbesserten sich bei den konventionell beatmeten Tieren unter der Neutrophilendepletion die Parameter des Gasaustausches.²⁶

In einem Modell, in dem surfactantdepletierte Kaninchen 4 Stunden mechanisch ventiliert wurden, wurde das β -2-Integrin, ein Zytokin, welches eine wichtige Rolle bei der Neutrophilenadhäsion spielt, pharmakologisch gehemmt. In der inhibierten Gruppe zeigten sich eine bessere Oxygenierung, eine bessere Compliance der Lunge und eine erheblich geringere Neutrophileninfiltration in das Lungengewebe. In der Kontrollgruppe waren Oxygenierung und Compliance signifikant schlechter, histologisch zeigten sich in der Lunge hyaline Membranen und Neutrophileninfiltrate.²⁷

Diese Studien verdeutlichen, daß die mechanische Ventilation in der Lage ist, einen signifikanten Einfluß auf die Entstehung einer systemischen Inflammation auszuüben und eine Aktivierung neutrophiler Granulozyten in Gang zu setzen.²⁸ Neutrophile Granulozyten können auf Verlauf und Schwere des ventilatorinduzierten Lungenversagens wesentlichen Einfluß nehmen.

1.3. Fragestellung

Zahlreiche Studien haben in verschiedenen Versuchsmodellen die durch mechanische Ventilation hervorgerufenen Schädigungen untersucht. Ein Großteil dieser Versuche erfolgte entweder in vitro oder die Dauer der Beatmung war sehr kurz und klinisch nicht relevant. Desweiteren sind Versuche in surfactantdepletierten Modellen durchgeführt worden, welche die klinische Situation nicht adäquat wiedergeben. Außerdem ist die Versuchsdauer in den meisten Studien auf maximal 2-4 Stunden begrenzt. Bei der Entwicklung des ventilatorinduzierten Lungenversagens in der Klinik spielen aber meist längere Zeiträume eine Rolle. Ziel dieser Studie war deshalb:

1. Die Pathogenese des ventilatorinduzierten Lungenversagens im Hinblick auf inflammatorische Reaktion, histologisches Bild und Lungenfunktionsparameter in einem In-vivo-Modell ohne Vorschädigung zu untersuchen.
2. Die inflammatorischen Veränderungen, die durch die mechanische Ventilation verursacht werden, in ihrem zeitlichen Verlauf darzustellen.

Deshalb haben wir ein Kurzzeitmodell und ein Langzeitmodell des ventilatorinduzierten Lungeversagens entwickelt. Die Tiere der Kurzzeitstudie wurden über eine Zeit von 4 Stunden jeweils hyperventiliert (Studiengruppe) bzw. normoventiliert (Kontrollgruppe). Das Besondere der Langzeitstudie ist, daß die ventilatorinduzierte Lungenschädigung nur einseitig hervorgerufen wurde und somit ein Überleben des Tieres zur Untersuchung nach 24 Stunden ermöglicht wurde.

2. Material und Methoden

2.1. Versuchstiere

Die Zulassung der Versuche erfolgte durch das Thüringer Landesverwaltungsamt (Reg.-Nr. 02-16/97; 02-60/99). Unsere Fragestellungen wurden an weißen Wistar-Ratten männlichen Geschlechts untersucht. Die Haltung der Tiere erfolgt bei künstlichem Tag–Nacht–Rhythmus unter Reinraumbedingungen. Sie erhielten ein kommerzielles Versuchstierfutter (Alma Z 1003, Fa. Alma, Kempten), wobei Nahrung und Wasser jeweils in ausreichendem Maße permanent zur Verfügung standen. Alle Versuche fanden in einem Labortrakt statt, der sich im Institut für Versuchstierkunde der Friedrich Schiller Universität Jena befindet und zur Klinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie der FSU gehört.

2.2. Studiendesign

Studiengruppen

Kurzzeitstudie

Ratten wurden über 4 Stunden mit folgenden zwei Strategien beatmet:

1. Normoventilierte Gruppe:

Tidalvolumen = 8 ml/kg KG
Atemfrequenz = 40/min
PEEP = 3 cm H₂O
Anzahl: 20 Tiere

2. Hyperventilierte Gruppe:

Tidalvolumen = 40 ml/kg KG
Atemfrequenz = 40/min
PEEP = 3 cm H₂O
Anzahl: 20 Tiere

Langzeitstudie

Es wurden die linke und rechte Lunge unabhängig voneinander mit niedrigen oder hohen Tidalvolumina beatmet.

1. Linkshyperventilierte Gruppe:

linke Lunge: Tidalvolumen = 20 ml/kg KG
rechte Lunge: Tidalvolumen = 4 ml/kg KG
Atemfrequenz = 40/min
PEEP = 3 cm H₂O
Anzahl: 20 Tiere

2. Kontrollgruppe:

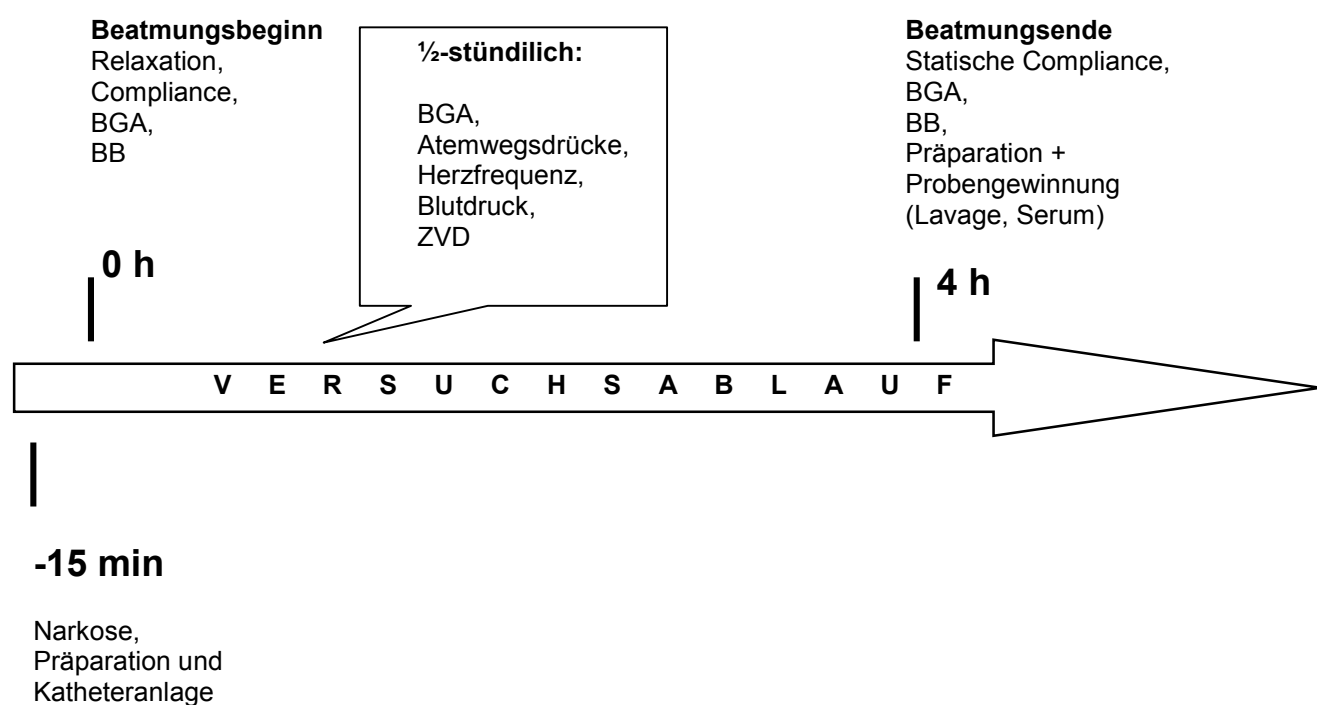
linke und rechte Lunge:
Tidalvolumen = 4 ml/kg KG
Atemfrequenz = 40/min
PEEP = 3 cm H₂O
Anzahl: 6 Tiere

Im folgenden Text wird der Begriff „Kurzzeitstudie“ für die Studie der Akutveränderungen der mechanischen Ventilation verwendet, „Langzeitstudie“ meint

die Studie der Spätveränderungen durch die Beatmung, die über einen Zeitraum von 24 Stunden vom Beatmungsbeginn an untersucht wurden.

2.2.1. Kurzzeitstudie

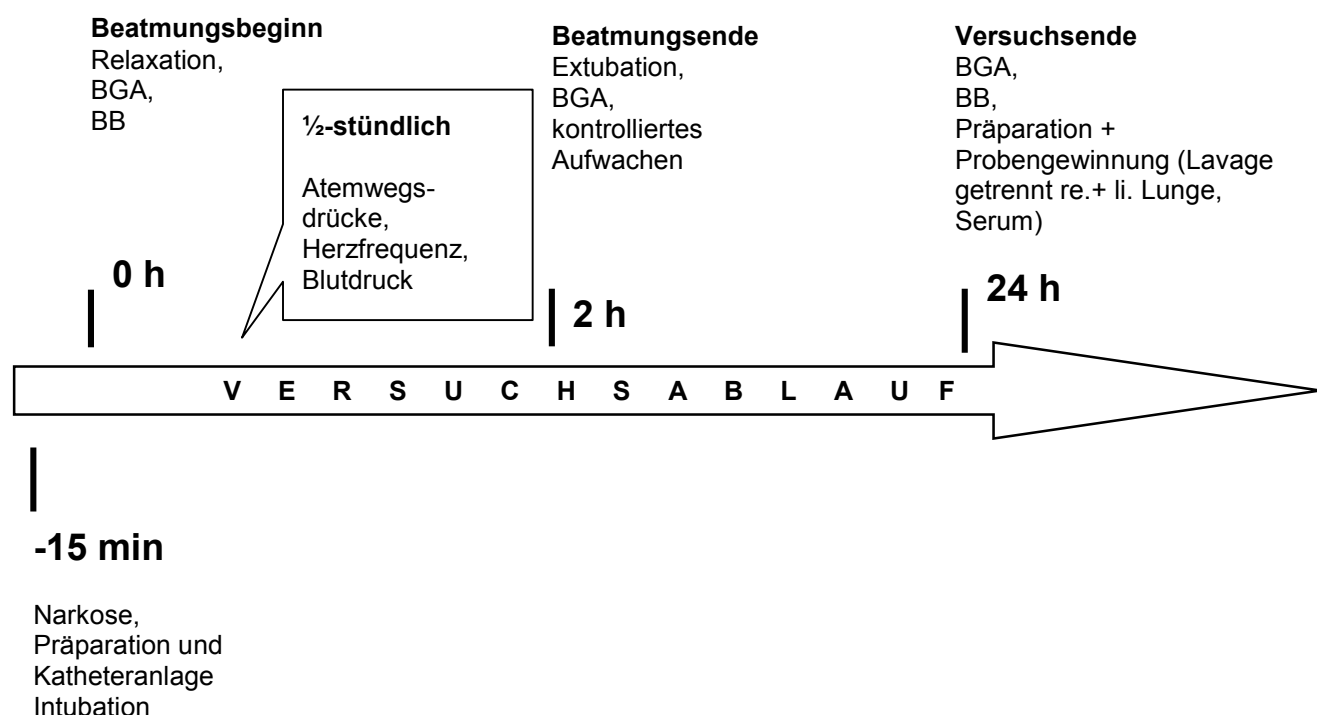
Allgemeines Studiendesign: Die Tiere wurden i.m. narkotisiert und während ständiger Sauerstoffzufuhr per Maske und unter einer Wärmelampe wurden ein arterieller und zentralvenöser Katheter gelegt. Danach wurden die Ratten tracheotomiert und trachealkanüliert. Es erfolgte die Muskelrelaxation und die Beatmung nach Zugehörigkeit zur jeweiligen Gruppe. Während der 4-stündigen Beatmung wurden $\frac{1}{2}$ -stündlich BGA's durchgeführt und relevante hämodynamische und respiratorische Werte notiert. Nach 4-stündiger Beatmung wurden die Tiere durch Blutentnahme unter Inhalationsnarkose getötet und die Lungen lavagiert .



2.2.2. Langzeitstudie

Die Tiere wurden ebenfalls i.m. narkotisiert, unter ständiger Sauerstoffzufuhr per Maske unter einer Wärmelampe wurden ein arterieller und zentralvenöser Katheter gelegt. Danach erfolgte die Intubation beider Lungen und nach der Muskelrelaxation erfolgte die Beatmung beider Lungen nach dem Versuchsschema (Hyperventilation

der linken Lunge und Normoventilation der rechten Lunge). Während der 2-stündigen Beatmung wurden hämodynamisch und respiratorisch relevante Parameter notiert. Am Ende der 2 Stunden wurde der arterielle Katheter aus der Arteria Carotis unter Ligatur dieses Gefäßes entfernt. Der Halsschnitt wurde schließlich vernäht. Nach erfolgter Extubation wurden die Tiere für eine Stunde in eine Sauerstoffkammer platziert, um ein Abklingen der Narkose zu ermöglichen. Anschließend verblieben die Tiere in einem Käfig unter Wärmezufuhr und wurden 24 Stunden nach Extubation durch Blutentnahme unter Inhalationsnarkose abgetötet.



2.3. Narkose

2.3.1. Narkose für die Kurzzeitstudie

Vor Beginn der Präparation der Tiere wurde eine kombinierte Injektionsnarkose mit 20 mg/kg KG des Injektionsnarkotikums Ketamin (Ketamin® 10, Atarost GmbH & Co., Twistringen) und 4 mg/kg KG des kurz wirksamen Benzodiazepins Midazolam (Dormicum® 5/1, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Whylen) intraperitoneal appliziert. Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte während des gesamten Versuches durch ein Perfusorsystem mit 50 mg/kg KG/h Ketamin und 0,5 mg/kg KG/h Midazolam in 0,6 ml Thomaejonin® (Vollelektrolytlösung: 1000ml

Infusionsflasche, Na 140 mval/l, K 4 mval/l; Delta Pharma GmbH, Pfullingen) über einen Katheter in der rechten Vena jugularis der Tiere.

2.3.2. Narkose für die Langzeitstudie

Vor Beginn der Präparation wurde den Tieren ein Narkosegemisch aus Ketamin in einer Dosis von 50 mg/kg KG und Dormicum 0,5 mg/kg KG intraperitoneal injiziert.

Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte in gleicher Weise wie in der Kurzzeitstudie durch ein Perfusorsystem, jedoch in die rechte Arteria carotis der Tiere.

2.4. Muskelrelaxation

Zu Beginn der Beatmung wurden die Tiere vollständig muskelrelaxiert. Über den arteriellen Katheter erfolgte die Applikation von Pancuroniumbromid, einem nicht depolarisierenden Muskelrelaxans in einer Dosis von 0,1ml/kg KG (Pancuronium duplex[®], CuraMED Pharma GmbH, Karlsruhe). Diese Dosis wurde in regelmäßigen Abständen appliziert, um eine möglichst vollständige Muskelrelaxation der Tiere während des Versuches zu gewährleisten.

2.5. Präparation der Halsgefäße

Unter sterilen Kautelen wurde die Präparation der rechtsseitigen Halsgefäße, die zur Applikation von Narkose und Flüssigkeit sowie zum Monitoring von Vitalparametern benötigt wurden, unter einem Operationsmikroskop (OPMI 1 FC, Carl-Zeiss GmbH, Oberkochen) vorgenommen. Nach Rasur der vorderen Halsregion des Tieres wurde durch eine mediane vertikale Inzision das Präparationsgebiet freigelegt. Zunächst wurde das subkutane Fettgewebe freipräpariert. Nach der Durchtrennung der vorderen Halsfaszie stellte sich die Halsmuskulatur dar. Anschließend wurde stumpf im Dreieck zwischen den Mm. sternohyoideus, sternomastoideus und omohyoideus präpariert bis die Halsgefäße auf einer Länge von ungefähr 1,5 cm zur Darstellung kamen (zu beachten war die ventrolateral der Arterie liegende Vene). Während der

Präparation wurde auf die Unversehrtheit des N.vagus geachtet. Außerdem wurde den Tieren während der Präparation über eine Maske (gekürzte 50 ml Blasenspritze, Fa. Braun, Melsungen) 100% Sauerstoff mit einem Frischgasflow von 4 l/min zugeführt.

2.5.1. Präparation für die Kurzzeittudie

In die rechte Arteria carotis und Vena jugularis wurden jeweils ein heparinisierter Katheterschlauch (PE-Schlauch 0,5 x 1,0 mm, Fa. Primed Medizintechnik GmbH, Halberstadt) ca. 3 cm tief eingeführt und durch prä- und postinzisionelle Ligatur mit Nahtgarn am Gefäß fixiert.

Umgehend erfolgte der Anschluß an das Perfusorsystem, wobei über die Vene das bereits oben beschriebene Narkosegemisch und über die Arterie die Volumenzufuhr sowie die Applikation von Heparin erfolgte.

Während des Versuches wurde das Präparationsgebiet steril abgedeckt, um eine Keimkontamination der Wunde zu vermeiden.

2.5.2. Präparation für die Langzeitstudie

Es wurden nach dem obigen Schema die rechte Arteria carotis freigelegt und katheterisiert. Über dieses Gefäß erfolgte die Applikation der Narkose und die Volumenzufuhr. Trachea und Vena jugularis blieben unversehrt.

2.6. Flüssigkeitssubstitution

Über die gesamte Dauer der Beatmung wurde den Tieren Thomaejonin® (eine Vollelektrolytlösung) mit einer Rate von 22 ml/kg KG/h in der Kurzzeitstudie und mit einer Rate von 28 ml/kg KG/h in der Langzeitstudie über die Arteria Carotis infundiert.

Inherhalb der ersten Stunde des Versuches wurde allen Tieren sowohl in der Kurzzeit- als auch in der Langzeitstudie über einen Zeitraum von 30 Minuten eine Flüssigkeitsmenge von 10 ml Thomaejonin® zusätzlich verabreicht, um geringe

Blutverluste während der Präparation auszugleichen und um einem initialen Blutdruckabfall entgegenzuwirken.

2.7. Antikoagulation

Der Infusionslösung wurden pro Stunde jeweils 0,5 IE Heparin (Liquemin N 25000, Hoffmann-LaRoche, Grenzach-Whylen) zugesetzt.

2.8. Präparation der Luftwege, Anschluß an den Respirator

2.8.1. Kurzzeitstudie

Die bereits während der Gefäßpräparation freigelegte Trachea wurde mit sterilem Instrumentarium wenige Knorpelspangen unterhalb des Kehlkopfes horizontal etwa zur Hälfte inzidiert. Anschließend wurde eine modifizierte und am vorderen Ende geradegeschliffene Stahlkanüle (Aspirationskanüle 2,0x30 mm, Fa. Braun, Melsungen) in die Trachea eingebracht und etwa 3-5 mm vor der Bifurkation positioniert. Schließlich wurde die Kanüle durch zweifache Ligatur mit der Trachea adaptiert. Über ein Schlauchsystem von ca. 0,5 m Länge wurde das Tier mit dem Beatmungsgerät verbunden.

2.8.2. Langzeitstudie

Nach erfolgter Relaxation und unter Zuhilfenahme eines Säuglingslaryngoskopes wurde die linke Lunge des Tieres mit einer am Ende abgewinkelten Knopfkanüle intubiert, indem die distale Öffnung der Kanüle in dem linken Hauptbronchus unter Atemwegsdruckkontrolle positioniert wurde. Die Atemwegsdruckkontrolle sollte sicherstellen, daß die komplette Lunge beatmet wird. Nach der Intubation wurde die linke Lunge sofort beatmet. Im Anschluß daran wurde ebenfalls laryngoskopisch eine Beatmungsflexüle (herkömmliche Flexüle, Fa. Braun, Melsungen) in die Trachea oberhalb der Bifurkation zur Lage gebracht und mit der Beatmung der rechten Lunge begonnen. Die rechte Lunge wurde ca. 2 min später als die linke Lunge beatmet.

2.9. Management der Beatmung

Die Beatmung der Tiere erfolgte mit einem bzw. im Langzeitversuch mit zwei Kleintierbeatmungsgeräten (TSE Typ 439-262, Fa. Technical & Scientific Equipments GmbH, Bad Homburg). Am Gerät konnten Atemfrequenz und Atemzugvolumen eingestellt werden. Die Atemgase wurden aus Wandarmaturen entnommen, die durch eine zentrale Gasversorgung des Institutes für Versuchstierkunde gespeist wurden. Die Einstellung der Einzelgasflows erfolgte über ein Flowmeter (Typ Aalborg). Die einzelnen Atemgasanteile des applizierten Beatmungsgemisches wurden durch Monitorgeräte gemessen. Die Messung der inspiratorischen O₂-Konzentration erfolgte über ein Gerät vom Typ Oxydig (Typ 8304300, Fa. Drägerwerk, Lübeck), die inspiratorische CO₂-Konzentration wurde über ein System vom Typ SMU 611 (Fa. Hellige) gemessen. In den inspiratorischen Schenkel wurde ein Drucksensor installiert, der den Atemwegsdruck kontinuierlich am Monitor (SMU 611, Fa. Hellige) sichtbar machte. Die Gaszufuhr- und Ableitung am Tier erfolgte über ein Y-Stück, ein Beatmungsfilter wurde unmittelbar vor die Beatmungskanüle positioniert. In den expiratorischen Schenkel des Beatmungssystems wurde eine Glaspipette eingebracht, die in einen wassergefüllten Meßzylinder so tief eintauchte, daß ein PEEP von 3 cm H₂O eingestellt werden konnte, der in allen Versuchsgruppen beibehalten wurde.

2.9.1. Kurzzeitstudie

2.9.1.1. Normoventilierte Gruppe:

Die Tiere wurden mit einem Gasgemisch aus Luft und O₂ beatmet. Um die im Vergleich zur hyperventilierten Gruppe erhöhte Diffusion von CO₂ in die Alveolen und die damit verbundene Konzentrationserhöhung von Sauerstoff im Alveolarraum auszugleichen, wurde bei beiden normoventilierten Gruppen eine höhere inspiratorische O₂-Konzentration (FiO₂ = 37%) gewählt als in der hyperventilierten Gruppe (FiO₂ = 30%).

Das Tidalvolumen wurde auf 8 ml/kg KG eingestellt. Die Atemfrequenz betrug konstant 40/min, der PEEP wurde auf 3 cm H₂O eingestellt.

2.9.1.2. Hyperventilierte Gruppe:

Es erfolgte die Beatmung durch ein Luft–O₂–CO₂-Gemisch, wobei 30 % O₂ und 5 % CO₂ zugesetzt wurden. Die inspiratorische Zugabe von ca. 5% CO₂ bei den hyperventilierten Tieren verfolgte das Ziel, einer respiratorischen Alkalose vorzubeugen und die CO₂-Partialdrücke im Blut im physiologischen Bereich zu halten. Die Tiere wurden mit einem Tidalvolumen von 40 ml/kg KG hyperventiliert. Die Atemfrequenz betrug wie in der normoventilierten Gruppe 40/min, der PEEP wurde auf 3 cm H₂O eingestellt.

In beiden Studiengruppen erfolgt die Beatmung über eine Zeitdauer von 4 Stunden. Nach deren Ablauf und nach abschließenden Messungen wurde das Tier abgetötet.

2.9.2. Langzeitstudie

Für den Langzeitversuch wurde das Versuchsdesign insofern modifiziert, als zwei voneinander unabhängige Beatmungsgeräte die Ventilation der beiden Lungen realisierten. Die Art und Weise der Gasapplikation und die Messung der verschiedenen Parameter erfolgte über die gleichen Systeme, die nunmehr jedoch in zweifacher Ausführung installiert wurden.

2.9.2.1. Linkshyperventilierte (über getrennte Tuben links hyperventilierte und rechts normoventilierte) Gruppe

Die linke Lunge wurde mit einem Gasgemisch aus Luft und 50 % O₂ mit einer Frequenz von 40/min beatmet. Das Atemzugvolumen der linken Lunge wurde auf 20 ml/kg KG eingestellt, welches der Hyperventilation im ersten Versuchsteil mit 40 ml/kg KG entspricht.

Über den im Hauptbronchus liegenden Beatmungskatheter wurde mit einer Frequenz von 40/min der rechten Lunge das gleiche Gasgemisch zugeführt, allerdings mit einem Atemzugvolumen von 4 ml/kg KG, entsprechend der Normoventilation der rechten Lunge. Es wurde jeweils ein PEEP von 3 cm H₂O eingestellt.

Die Beatmung erfolgte über einen Zeitraum von 2 Stunden. Innerhalb der ersten 10 Minuten wurde mit 100% O₂ beatmet, um eine möglicherweise bei der Intubation verursachte hypoxische Situation auszugleichen. Nach 2 Stunden wurde das

reflexaktive, nicht mehr muskelrelaxierte Tier extubiert (unter Absaugung und Freihaltung der Atemwege). Anschließend erfolgte in einer Kammer für ca. 1 Stunde die Applikation von 100 % Sauerstoff mit einem Frischgasflow von 4 l/min bis Zustand und Wachheitsgrad des Tieres entsprechend stabil waren und ein Umsetzen in den Käfig unter Raumbedingungen gestatteteten.

2.9.2.2. Beidseits normoventilierte (links und rechts über getrennte Tuben normoventilierte) Gruppe

Sowohl die linke als auch die rechte Lunge wurden mit einem Gemisch aus Luft und 50 % O₂ mit einer Frequenz von 40/min beatmet. Das Atemzugvolumen der linken und der rechten Lunge wurde auf 4 ml/kg KG eingestellt, das der Normoventilation im ersten Versuchsteil entspricht. Der PEEP betrug jeweils 3 cm H₂O. Innerhalb der ersten 10 Minuten erfolgte ebenfalls die Applikation von 100% O₂ aus den o.g. Gründen. Das Vorgehen zum Versuchsende gleicht dem bei der linkshyperventilierten Gruppe.

2.10. Messungen der respiratorischen und hämodynamischen Parameter

2.10.1. Kurzzeitstudie

In Abständen von 30 Minuten vom Versuchsbeginn an wurden arterielle Blutgasanalysen bei der jeweils eingestellten F_iO₂ der Tiere gemessen. Herzfrequenz, arterieller Blutdruck und Atemwegsdrücke der Tiere wurden kontinuierlich erfaßt und auf einem Monitor visuell dargestellt. Meßwerte wurden im Protokoll alle 30 Minuten erfaßt. Zu Beginn und zum Ende des Versuches wurde bei jedem Tier die statische Compliance der Lunge gemessen.

Die Körperkerntemperatur wurde durch eine Wärmelampe weitgehend konstant gehalten und während der Versuchszeit über eine rektale Temperatursonde kontinuierlich gemessen.

2.10.2. Langzeitstudie

Die erste Blutgasanalyse wurde 5 Minuten nach Beginn der Beatmung beider Lungen bei einer F_iO_2 von 100 % durchgeführt. Weitere Meßwerte wurden zum Ende der Beatmung (nach 2 Stunden) sowie nach Versuchsende (nach 24 Stunden) gemessen. Die F_iO_2 wurde jeweils durch kurzzeitige Maskenbeatmung mit Sauerstoff auf 100% eingestellt, um identische Bedingungen bei allen Messungen zu realisieren. Herzfrequenz, arterieller Blutdruck und Atemwegsdrücke der Tiere wurden ebenfalls kontinuierlich gemessen und auf einem Monitor visuell dargestellt. In Abständen von 30 Minuten wurden die Werte protokolliert.

Die Körperkerntemperatur während der Beatmung wurde nach dem obigen Schema reguliert und gemessen.

2.11. Gewinnung und Aufarbeitung der Proben

2.11.1. Kurzzeitstudie

Am Ende der vierstündigen Beatmung wurde nochmals die statische Compliance der Lunge gemessen. Die tief narkotisierten Ratten wurden anschließend durch eine vollständige Entblutung über die V.cava inferior getötet. Das gewonnene und heparinisierte Blut (ca. 10 ml) wurde im Anschluß daran 10 Minuten bei 4°C mit 3000 rpm (Umdrehungen/min) zentrifugiert (Kühlzentrifuge „Roxita IRP“, Fa. Hettich, Tuttlingen), das Serum wurde in 2 ml Röhrchen aufgeteilt und bei – 84°C aufbewahrt. Durch eine mediane Thorakotomie wurde das Herz-Lungen-Paket der Tiere entnommen. Zunächst wurde der linke Hauptbronchus komplett abgeklemmt, während die rechte Lunge in 3 Schritten mit je 3 – 3 – 4 ml PBS (Phosphat Buffer Saline) lavagiert wurde. Die gewonnene bronchoalveoläre Lavage wurde 10 Minuten in der Kühlzentrifuge bei 4°C mit 3000 rpm zentrifugiert und der Überstand bei -84°C aufbewahrt. Das gewonnene Pellet wurde mit 100µl NaCl resuspendiert um die Zahl der enthaltenen Leukozyten in einer Neubauerzählkammer bei 40-facher Vergrößerung zu bestimmen. Vom Resuspendat der Lavage wurde ebenfalls ein Ausstrich auf einem Objektträger angefertigt.

Nach Lösung der Klemme am linken Hauptbronchus wurde die Arteria Pulmonalis mit 20 ml NaCl gespült, um den linken Lungenflügel möglichst vollständig vom Blut zu

befreien. Anschließend wurde der linke Unterlappen als Nativpräparat gewonnen und sein Gewicht gemessen. Unter Zugabe von 1 ml NaCl wurde dieses Gewebstück bei 35000 rpm eine Minute lang homogenisiert (Gewebe-Homogenisator, Fa.Micca). Das erhaltene Homogenat wurde in der Kühlzentrifuge 10 Minuten ebenfalls bei 4°C mit 3000 rpm zentrifugiert. Es erfolgte die Trennung vom Pellet und die Aufbewahrung bei -84°C.

Das verbliebene Gewebe der linken Lunge wurde durch Formalin fixiert und später im Pathologischen Institut der Universität Freiburg i. Br. histologisch aufbereitet.

2.11.2. Langzeitstudie

24 Stunden nach der Dekonnektion vom Respirator wurden die tief narkotisierten Tiere über die V.cava inferior vollständig entblutet. Nach dem obigen Prinzip wurde das Serum der Tiere gewonnen, anschließend bei -84°C tiefgefroren aufbewahrt. Desweiteren wurde ein Blutbild angefertigt, ebenfalls wurde die Zahl der neutrophilen Granulozyten im Blut des Tieres unter dem Mikroskop in der Zählkammer bei 40-facher Vergrößerung bestimmt.

Die Lunge des Tieres wurde präparatorisch entnommen. Es erfolgte nun die Gewinnung der bronchoalveolären Lavage nach dem oben beschriebenen Verfahren. Eine Histologie wurde analog angefertigt. Unter dem Mikroskop wurde die Zahl der Leukozyten bei einer 40-fachen Vergrößerung bestimmt.

Vom Resuspendat der Lavage wurde ein Ausstrich angefertigt.

2.12. Meßmethoden

2.12.1. Blutgase

Sämtliche Proben wurden in einem Analysator der Firma Radiometer Copenhagen (ABL 50) gemessen. Das Blut wurde in heparinisierte (Liquemin N[®], Fa. Hoffman La Roche, Grenzach-Whylen) 1ml Spritzen entnommen und dann gemessen.

2.12.2. Bestimmung der Zellzahl von Lavage und Blut

Zu Beginn und am Ende des Versuches wurde aus dem arteriellen Katheter Blut zur Leukozytenzählung entnommen, mit 3%-iger Essigsäure im Verhältnis 1:10 oder 1:20 verdünnt und in einer Neubauer-Zählkammer (Fa. Feinwerkoptik, Bad Bernburg) mikroskopisch (100–400-fache Vergrößerung bei Standart KF-2, Zeiss, Wetzlar) ausgezählt. Nach dem gleichen Procedere erfolgte die Zellzählung im Resuspendat der bronchioalveolären Lavage. Zur Zelldifferenzierung wurde ein Blutausstrich auf einem Objektträger (Fa. Menzel) angefertigt. Die Ausstriche der bronchioalveolären Lavage wurden auf mit Albumin beschichteten Objektträgern angefertigt (Fa. Menzel).

Die Färbung der Ausstriche erfolgte nach Trocknung mit der Methode nach Pappenheim:

- May-Grünwald-Stammlösung (Fa. Merck, Darmstadt), 1 min
- Spülung mit Aqua dest. (Fa. Merck, Darmstadt)
- Giemsa-Lösung 1:20 in Aqua dest. 3 min
- Spülung mit Aqua dest.
- Trocknung

Bei der Differenzierung wurde unter dem Mikroskop („Jenamed“, Fa. Zeiss, Jena) jeweils eine Anzahl von 100 Zellen bei 200-facher Vergrößerung mit einem Ölimmersionsobjektiv bestimmt.

2.12.3 Messung der statischen Compliance der Lunge

Die statische Compliance des respiratorischen Systems wurde jeweils vor Beatmungsbeginn und am Ende der 4 stündigen Beatmung gemessen. Vor Beginn der Messungen wurden die Tiere vollständig muskelrelaxiert.

Ein Dreiwegehansystem (Fa. Braun, Melsungen) wurde direkt an die Beatmungskanüle angeschlossen. An einem weiteren Hahn wurde ein Druckaufnehmer, wie er für herkömmliche invasive Blutdruckmessungen verwendet wird, angeschlossen. Es wurde über den Monitor SMU 611 (Fa. Hellige) vor Beginn der Messung ein Druckabgleich durchgeführt. An den dritten Ansatz des Hahnes

wurde eine luftgefüllte 10 ml–Spritze angeschlossen (Fa. Braun, Melsungen). In jeweils 2 ml–Schritten wurde die Lunge bis auf ein Volumen von 10 ml gebläht und anschließend entbläht. Korrespondierende Druckwerte wurden protokolliert. Vor Beginn der Compliancemesung wurden die Tiere präoxygeniert

2.12.4. Bestimmung der Zytokinkonzentration in Serum und der bronchoalveolären Lavage (BAL)

Zur Messung der TNF- α - und IL-6-Konzentrationen in Blut und Lavage wurde ein Ratten–TNF- α /IL-6-ELISA verwendet. Sämtliche Proben wurden am Institut für Biochemie der Universität Konstanz von der Arbeitsgruppe Stober durchgeführt.

Zytokin – Messung mittels ELISA :

Eine 0,5%-ige Antiserumlösung (polyklonales Kaninchen-anti-Ratten-TNF- α /IL-6-Antiserum in 0,1 M Karbonatpuffer: 8,401g NaHCO₃ in 1l Aqua bidest. lösen, pH auf 8,2 einstellen) wurde in hochaffinen 96 Well-Platten (Falcon, Art.Nr. 3915) über Nacht bei 4°C inkubiert. Nach dem Ausschlagen der Platte wurden die freien Bindungsstellen mit 3% BSA (Albumine bovine fraction V, Fa. Serva, Katalog-Nr. 11930) in PBS (30g BSA in 1l PBS lösen) für 2 Stunden bei Raumtemperatur gesättigt. Anschließend erfolgte zweimaliges Waschen mit 0,05%-igem Tween 20 (Fa. Sigma, Nr.P-1379) in PBS. Es wurden nun die Zytokinstandards (12,3-3000pg/ml TNF- α) sowie die Proben aufgetragen und bei Raumtemperatur für 4 Stunden inkubiert. 1ml biotinylierter Anti-Mu/Rat-TNF- α -Antikörper-Lösung (PharMingen, Katalog-Nr. 18352D) bzw. Anti-Mu/Rat-IL-6-Antikörper-Lösung (PharMingen, Katalog-Nr. 18070D) wurde nach weiteren 4 Waschungen dazugegeben und 45 Minuten inkubiert. Überschüssige Antikörperlösung wurde durch 6 weitere Waschungen entfernt und durch eine Streptavidin/Peroxidase-Konjugat-Lösung (POD, Dianova, Hamburg, Nr. 016-030-084: 0,5µg/ml in PBS/BSA) substituiert. Nach 30 Minuten wurde durch 8-maliges Spülen die überschüssige Konjugatlösung entfernt und anschließend das Peroxidase-Substrat hinzugefügt. Die Oxidation des Substrates war nach ca. 15 Minuten weit genug vorangeschritten, so daß die Reaktion durch Zugabe von 1 M H₂SO₄ abgestoppt wurde. Es erfolgte die Messung der Absorption bei 450nm gegen eine Referenzwellenlänge von 590 nm.

2.12.5. Messung der Proteinkonzentration in der BAL

Die Messungen der Proteinkonzentration in der bronchoalveolären Lavage wurden am Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der FSU Jena durchgeführt. Es wurde die Methode der Gesamteiweißbestimmung im Urin bei niedrigem Proteingehalt (GEU/N) angewandt. Die Proteine in der Lavage wurden in alkalischer Lösung (1000ml Reagenz 1 = 428ml NaOH 1mol/l + 572 ml Aqua bidest. + 22,33g EDTA (Sigma E-1644) + 1g Natriumazid) durch Benzethoniumchlorid gefällt (150ml Reagenz 2 = 6,25g Benzethoniumchlorid (Sigma B-8879) + 0,15 g Natriumazid + 150ml aqua bidest.). Die Trübung der Lösung, die proportional zu der zu messenden Proteinkonzentration ist, wurde nach Kalibration mit 6 standardisierten Eichlösungen (GEU/N 1-6) mit verschiedenen Proteinkonzentrationen (GEU/N-1 = physiolog. NaCl, GEU/N-2-6 (Preciset U/CSF Protein Roche Diagnostics)) turbidimetrisch (Messbereich: 0-2000mg/l) bestimmt (Gerät: Beckmann Synchron, Clinical System LX 20).

2.13. Statistische Auswertung

Die in unserer Studie erhobenen Meßwerte wurden mit Hilfe des Computerprogrammes SPSS „Statistical Package for Social Sciences“ (Fa. SPSS Inc., Chicago, USA) ausgewertet. In der Kurzzeitstudie haben wir zur Auswertung der gemessenen Werte (Blutgase, Compliance, Differentialblutbilder, Zytokine, Proteingehalt) eine „Multivariate Two-Way Analysis of Variance“ (MANOVA) mit den Faktoren Gruppe und Zeit durchgeführt. Als Post-Hoc-Test zur Erkennung von Gruppeneffekten führten wir den „Tukey-HSD-Test“ durch. In der Langzeitstudie haben wir einen t-Test für verbundene Stichproben (rechte versus linke Lunge) durchgeführt. Ein Niveau von $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant festgelegt. Sämtliche Werte wurden als Mittelwerte mit zugehörigem Standardfehler (SEM) angegeben.

3. Ergebnisse

3.1. Ergebnisse der Kurzzeitstudie

3.1.1. Zustand der Versuchstiere nach der Beatmung

Nach der Beatmung über einen Zeitraum von 4 Stunden konnten folgende Beobachtungen gemacht werden. Bei den normoventilierten Tieren waren nach der Thorakotomie keine sichtbaren Veränderungen der intrathorakalen Organe festzustellen. Es kam ein homogen rosa gefärbtes Lungenparenchym zur Darstellung, Ergüsse in beiden Pleuraspalten waren nicht verifizierbar, ebenso wenig wie venöse Stauungszeichen. In der hyperventilierten Gruppe dagegen konnte man schwere ödematöse Veränderungen des Lungenparenchyms feststellen, diese äußerten sich als leberfarbene tiefrote Verfärbungen. Ebenso stellten sich bei den hyperventilierten Tieren beidseits Pleuraergüsse dar, einhergehend mit Stauungen der großen venösen Gefäße vor dem Herzen. Als weiterer Hinweis auf das Lungenödem waren bereits nach 2-2,5-stündiger Beatmung atemsynchrone grobblasige Rasselgeräusche hörbar.

3.1.2. Hämodynamische Parameter während der Beatmung

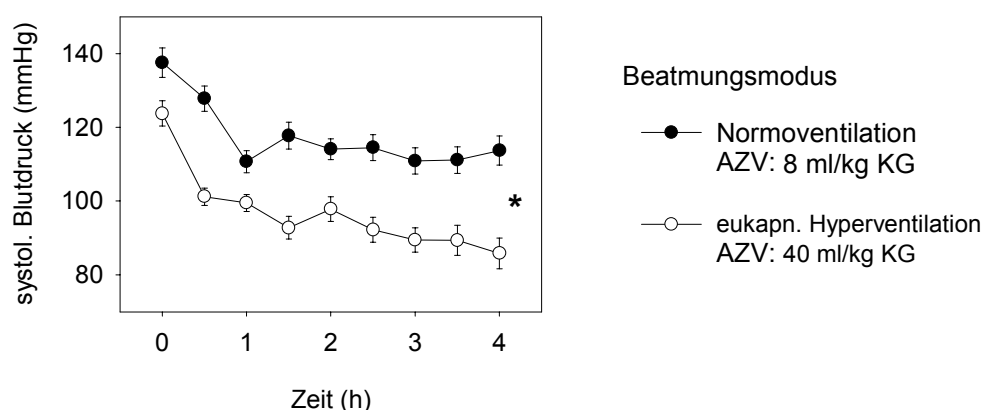


Abbildung 3: Verlauf der systolischen Blutdruckwerte in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus *($p < 0,01$) Normoventilation versus Hyperventilation (AZV = Atemzugvolumen)

Zu Beginn und während des gesamten Versuches hatten die normoventilierten Tiere einen höheren Blutdruck als die hyperventilierten Tiere. Bei den normo- als auch

hyperventilierten Tieren kam es während des Versuches zu einem Blutdruckabfall um ca. 30 mmHg.

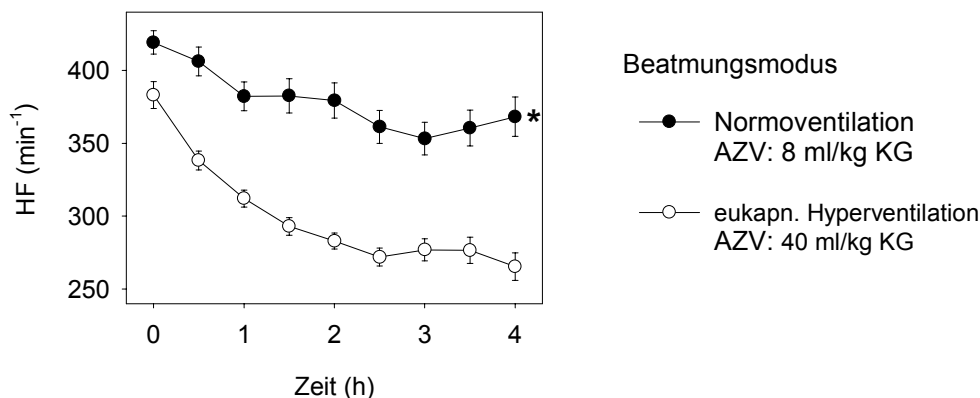


Abbildung 4: Herzfrequenz in beiden Gruppen in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus *($p < 0,01$) Normoventilation versus Hyperventilation

Bereits zu Beginn und während des gesamten Versuches waren die Herzfrequenzen in der normoventilierten Gruppe höher als in der hyperventilierten Gruppe. Im Verlauf der Beatmung kam es in der hyperventilierten Gruppe zu einem stärkeren Abfall der Herzfrequenzen als in der normoventilierten Gruppe ($p < 0.01$).

3.1.3. Arterielle Blutgase während der Beatmung

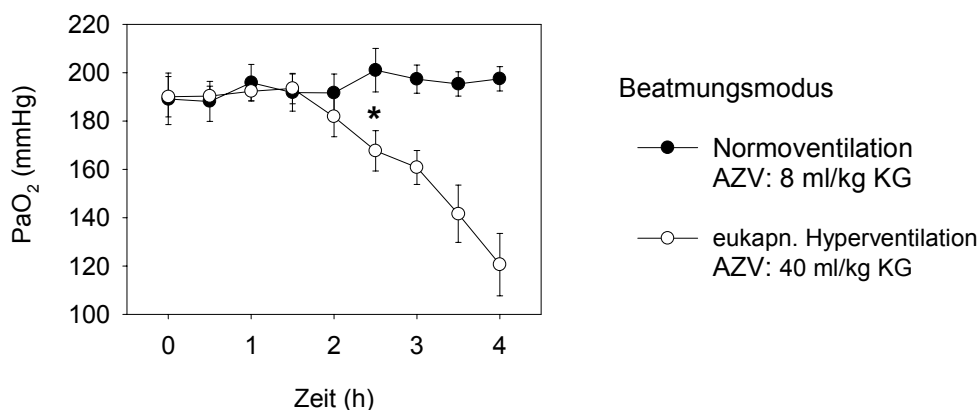


Abbildung 5: Verlauf des PaO₂ in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus *($p < 0,01$) Normoventilation versus Hyperventilation ab Zeitpunkt 2,5 h

In der Gruppe der normoventilierten Tiere kam es zu keinen Veränderungen des PaO_2 . Im Gegensatz dazu sank der PaO_2 in der hyperventilierten Gruppe ab dem Zeitpunkt von 2,5 Stunden nach Versuchsbeginn signifikant auf Werte um 120 mmHg ($p < 0,01$).

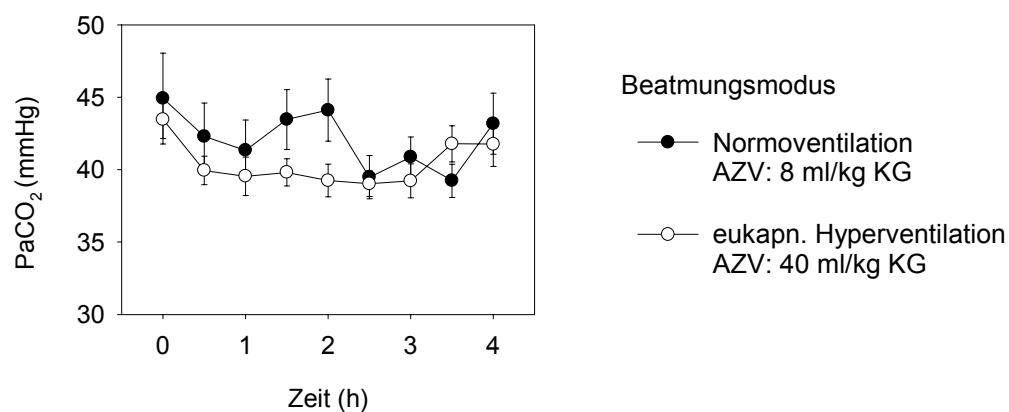


Abbildung 6: Verlauf des PaCO_2 in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus

Der PaCO_2 zeigt keine signifikanten Veränderungen während des Versuches in den beiden Gruppen. Auch zwischen den beiden Gruppen traten keine Veränderungen während der Beatmung auf.

3.1.4. Statische Compliance der Lungen

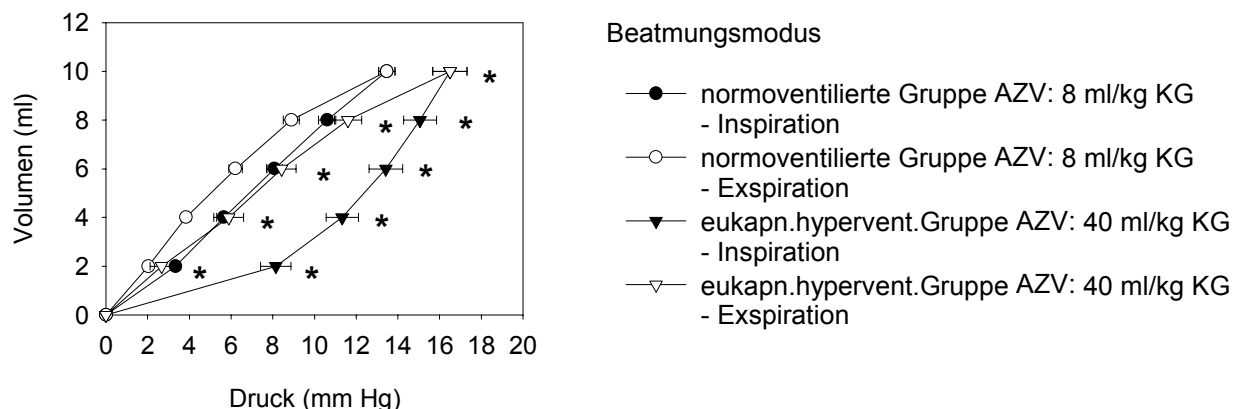


Abbildung 7: Druckwerte in der Lunge in Abhängigkeit vom applizierten Volumen nach 4-stündiger Beatmung im jeweiligen Beatmungsmodus

*($p < 0,01$) normoventilierte versus hyperventilierte Gruppe

Die statische Compliance der Lungen der hyperventilierten Tiere ist nach 4 Stunden Beatmung signifikant niedriger als die der normoventilierten Tiere ($p < 0,01$).

Besonders bei der Inflation der Lungen resultierten in der Gruppe der hyperventilierten Tiere deutlich erhöhte Druckwerte im Vergleich zu den normoventilierten Tieren. Bei der Entdehnung sind die korrespondierenden Druckwerte in der hyperventilierten Gruppe ebenfalls höher.

3.1.5. Anzahl neutrophiler Granulozyten im Blut vor und nach 4 Stunden Beatmung

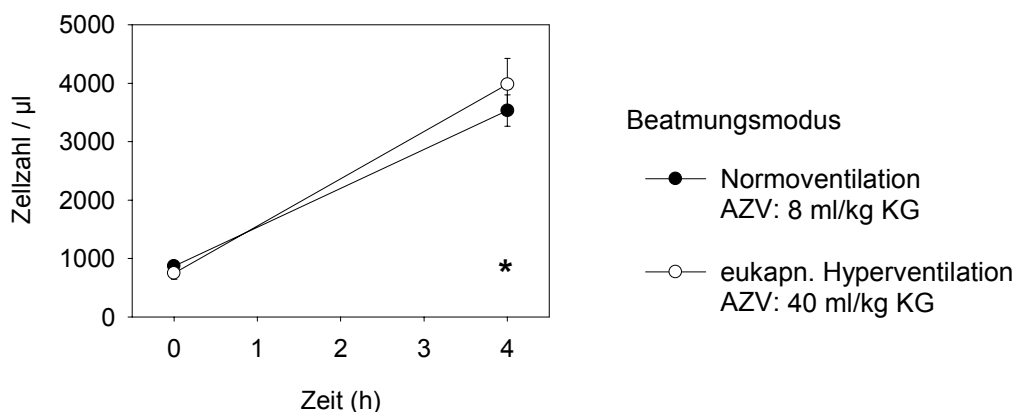


Abbildung 8: Zahl neutrophiler Granulozyten im Blut der Tiere vor und nach 4-stündiger Beatmung in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus

*($p < 0,01$) über die Versuchsdauer innerhalb beider Gruppen

Nach 4-stündiger Beatmung hat sich die Neutrophilenzahl im Blut in beiden Gruppen im Vergleich zum Ausgangswert vor Versuchsbeginn auf das 4-fache erhöht ($p < 0,01$), es besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

3.1.6. Anzahl neutrophiler Granulozyten in der BAL nach 4 Stunden Beatmung



Abbildung 9: Anzahl neutrophiler Granulozyten in der BAL nach 4-stündiger Beatmung in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus
 *($p < 0,01$) Normoventilation versus Hyperventilation

In der bronchoalveolären Lavage ist die Zahl der neutrophilen Granulozyten nach 4 Stunden Beatmung in der hyperventilierten Gruppe um mehr als das 2-fache gegenüber der normoventilierten Gruppe erhöht ($p < 0,01$).

3.1.7. IL-6-Konzentrationen in Serum und BAL nach 4 Stunden Beatmung

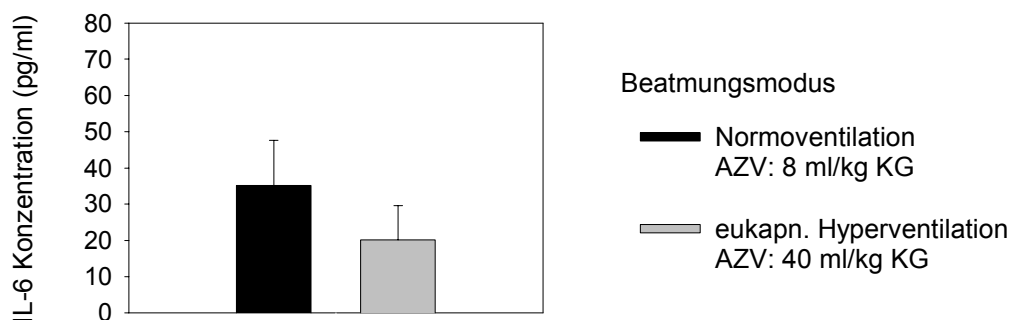


Abbildung 10: IL-6-Konzentration im Serum nach 4-stündiger Beatmung in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus



Abbildung 11: IL-6-Konzentration in der BAL nach 4-stündiger Beatmung in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus
*($p < 0,01$) Normoventilation versus Hyperventilation

Im Serum fanden sich nach 4 Stunden Beatmung in beiden Gruppen erhöhte Konzentrationen von IL-6. Zwischen den beiden Gruppen gab es jedoch keine Unterschiede in der IL-6-Konzentration im Serum.

Nach 4 Stunden Beatmung war die IL-6-Konzentration in der BAL in der hyperventilierten Gruppe ca. 7-fach höher als bei den normoventilierten Tieren ($p < 0,01$).

3.1.8. TNF- α -Konzentrationen in Serum und BAL nach 4 Stunden Beatmung

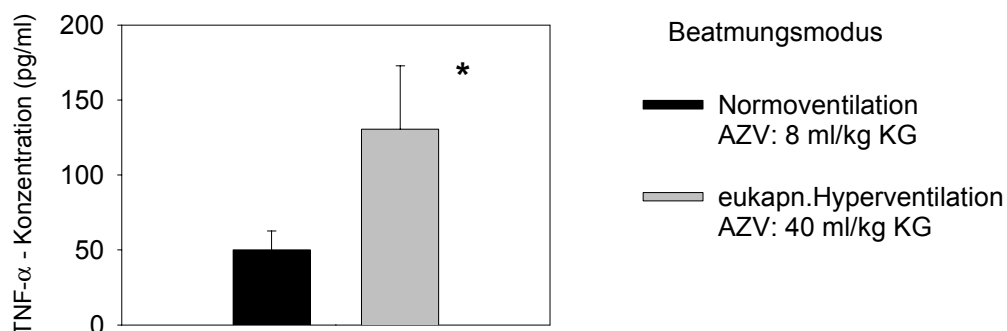


Abbildung 12: TNF- α -Konzentration im Serum nach 4-stündiger Beatmung in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus

*($p < 0,05$) Normoventilation versus Hyperventilation

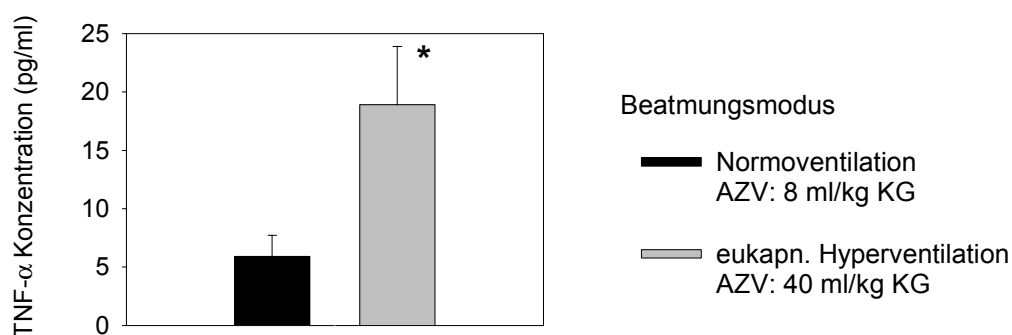


Abbildung 13: TNF- α -Konzentration in der BAL nach 4-stündiger Beatmung in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus

*($p < 0,01$) Normoventilation versus Hyperventilation

Nach 4 Stunden Beatmung waren in der hyperventilierten Gruppe die Konzentrationen von TNF- α im Serum signifikant höher als in der normoventilierten Gruppe ($p < 0,05$).

Die TNF- α -Konzentration in der BAL war nach der 4-stündigen Beatmung in der hyperventilierten Gruppe um das ca. 3-fache im Vergleich zur normoventilierten Gruppe signifikant erhöht ($p < 0,01$).

3.1.9. Proteinkonzentration in der BAL nach 4 Stunden Beatmung

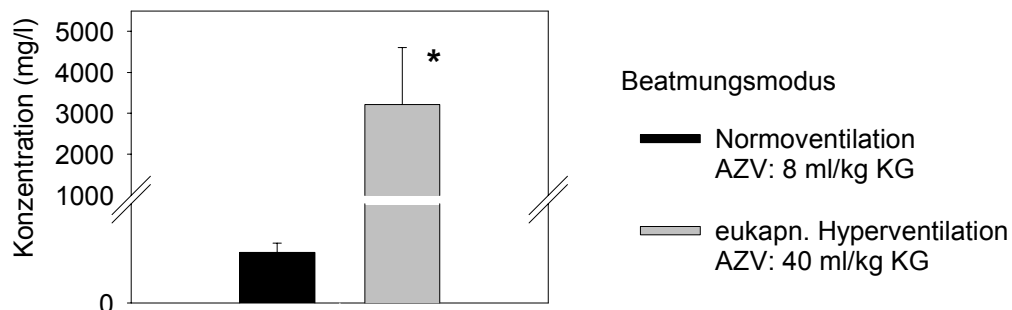
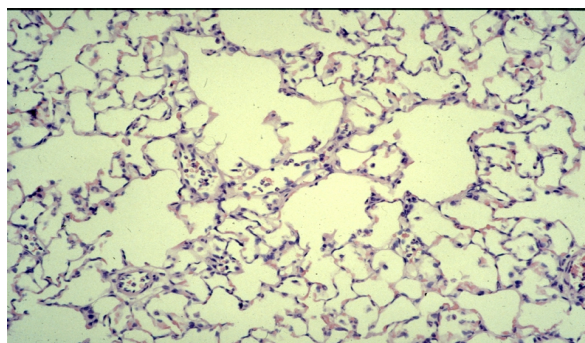


Abbildung 14: Proteinkonzentration in der BAL nach 4-stündiger Beatmung in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus
 *($p < 0,01$) Normoventilation versus Hyperventilation

Die Proteinkonzentration in der BAL der hyperventilierten Tiere war nach der 4-stündigen Beatmung ca. 30-fach höher als in der Gruppe der normoventilierten Tiere ($p < 0,01$).

3.1.10. Histologische Veränderungen an der Lunge nach 4 Stunden Beatmung

Normoventilation



Eukapnische Hyperventilation

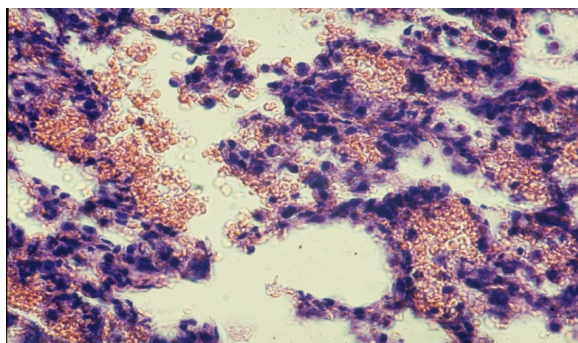


Abbildung 15: Histologische Veränderungen an der Lunge nach der 4-stündigen Beatmung

Die Lunge der eukapnisch hyperventilierten Tiere weist nach 4 Stunden histologisch schwere Destruktionen der alveolokapillären Strukturen auf, es finden sich massive Infiltrate neutrophiler Granulozyten in das Lungenparenchym.

Die Lunge der normoventilierten Tiere weist kaum Schädigungen auf.

3.2. Ergebnisse der Langzeitstudie

3.2.1 Befinden der linksseitig hyperventilierten Tiere innerhalb von 24 Stunden nach Beatmungsbeginn

Nach dem Ende der Beatmung waren die Tiere respiratorisch noch deutlich beeinträchtigt, weshalb sie nach der Beatmung für 1 Stunde in einer klimatisierten Kammer mit 100% Sauerstoff verblieben. In dieser Kammer konnte die respiratorische Anpassung an eine suffiziente Spontanatmung erfolgen, die Tiere konnten anschließend in die Käfige umgesetzt werden.

Arterielle Blutgasanalysen dokumentieren die respiratorische Situation der Tiere innerhalb des Zeitraumes von 24 Stunden nach Beatmungsbeginn.

Der körperliche Zustand der Tiere war 24 Stunden nach Versuchsbeginn noch mäßiggradig reduziert, erkennbar an errektierten Haaren, eingetrübten Konjunktiven, Bewegungsarmut im Käfig.

Bei der Thorakotomie nach dem Abtöten der Tiere fanden sich in der linken Lunge meist inhomogene Veränderungen im Sinne von Infiltraten und Atelektasen. Die Farbe läßt sich als schmutzig-rosa bis leberfarben beschreiben. Hingegen war die rechte Lunge in den meisten Fällen frei von derartigen Veränderungen und zeigte ein normal rosa gefärbtes Lungenparenchym. Bei ca. 30 % der Tiere imponierten in der linken Pleurahöhle Ergüsse.

3.2.2. Befinden der Tiere der beidseits normoventilierten Gruppe innerhalb von 24 Stunden nach Beatmungsbeginn

Nachdem die Tiere vom Respirator getrennt wurden, konnte man bei den Tieren dieser Gruppe eine wesentlich schnellere Rückkehr zu einer suffizienten Spontanatmung beobachten als in der linksseitig hyperventilierten Gruppe. Das Befinden war bereits 6 Stunden nach Versuchsende deutlich besser als in der linkshyperventilierten Gruppe. 24 Stunden nach dem Beginn der Beatmung war der Zustand der Tiere nicht zu unterscheiden von dem gesunder Tiere.

Bei der Thorakotomie und Präparation der Lungen stellten sich regelrechte morphologische Verhältnisse dar, ohne Atelektasen und Infiltrate.

3.2.3. Hämodynamische Parameter während der Beatmung

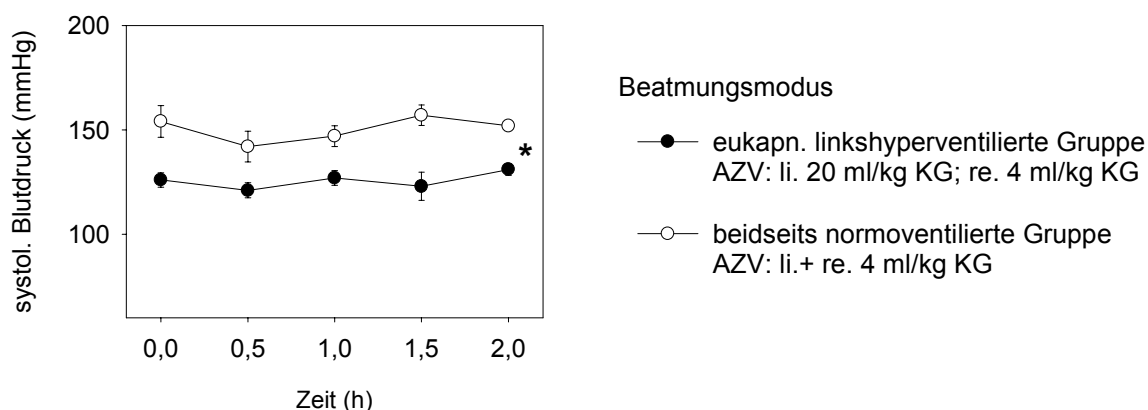


Abbildung 16: Systolischer Blutdruck während der Beatmung in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus

*($p < 0,01$) linkshyperventilierte Gruppe versus beidseits normoventilierte Gruppe

In der beidseits normoventilierten Gruppe sind die Blutdruckwerte während der Dauer der Beatmung im Vergleich zur linkshyperventilierten Gruppe jeweils um ca. 20 mmHg erhöht ($p < 0,01$). Im Verlauf der Beatmung ändern sich die Werte innerhalb der beiden Gruppen jedoch nicht.

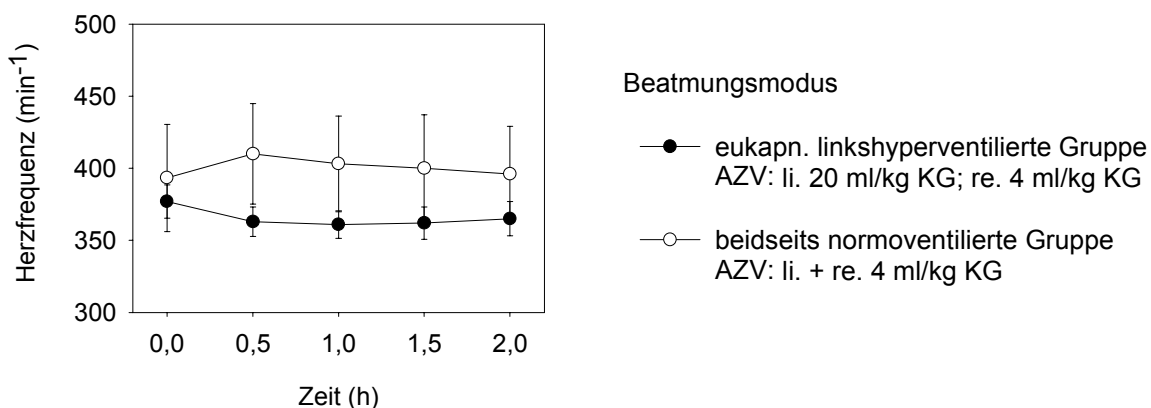


Abbildung 17: Herzfrequenz während der Beatmung in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus

Die Gruppe der beidseits normoventilierten Tiere weist während der Dauer der Beatmung höhere Herzfrequenzen auf als die Gruppe der linkshyperventilierten Tiere. Dieser Unterschied ist jedoch statistisch nicht signifikant.

3.2.4. Arterielle Blutgase während und 24 Stunden nach Beatmungsbeginn

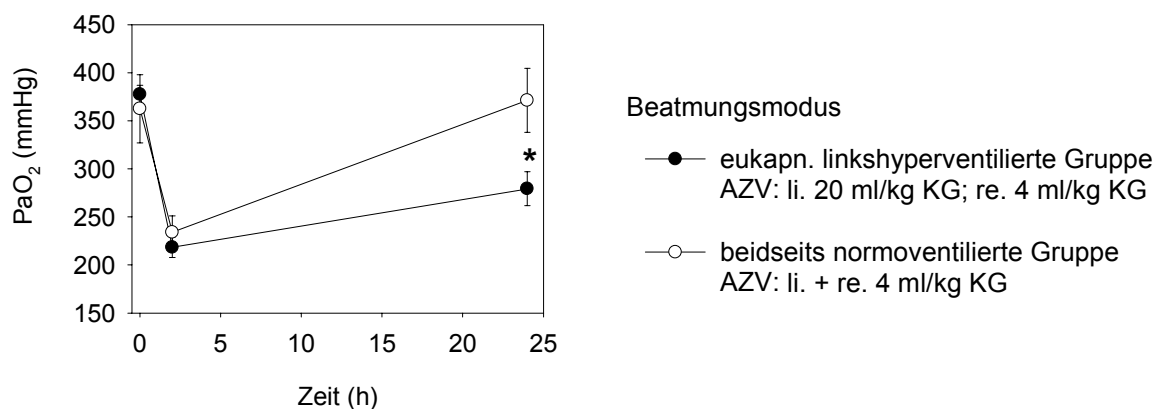


Abbildung 18: Verlauf des PaO₂ (bei einer FiO₂ = 100%) in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus zum Beginn und Ende der Beatmung und 24 Stunden nach Beatmungsbeginn

*($p < 0,05$) linkshyperventilierte Gruppe versus beidseits normoventilierte Gruppe

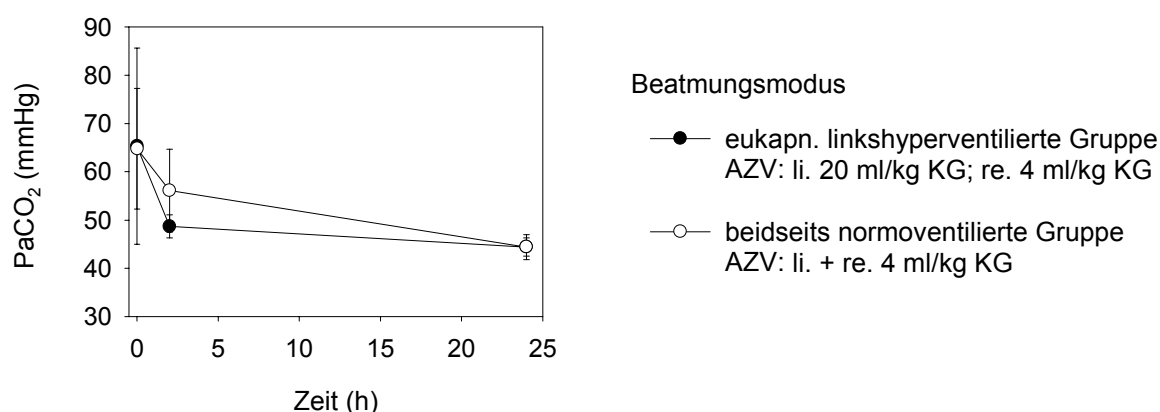


Abbildung 19: Verlauf des PaCO₂ in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus zum Beginn und Ende der Beatmung und 24 Stunden nach Beatmungsbeginn

In beiden Versuchsgruppen kommt es bis zum Ende der Beatmung zu einem Abfall des PaO₂ um ca. 130 mmHg. Nach 24 Stunden unterscheiden sich die Sauerstoffpartialdrücke in beiden Gruppen signifikant voneinander ($p < 0,05$). In der beidseits normoventilierten Gruppe erreicht der PaO₂ wieder den Ausgangswert zu Versuchsbeginn, in der linkshyperventilierten Gruppe ist der PaO₂ etwa 100 mmHg geringer als der Ausgangswert.

Die PaCO₂-Werte im Blut sind bereits zu Versuchsbeginn in beiden Gruppen erhöht und fallen bis zum Zeitpunkt 2 Stunden in beiden Gruppen auf ca. 50 mmHg ab.

Nach 24 Stunden normalisiert sich in beiden Gruppen der PaCO_2 auf physiologische Werte. Es gibt keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

3.2.5. Anzahl neutrophiler Granulozyten im Blut vor und 24 Stunden nach Beatmungsbeginn

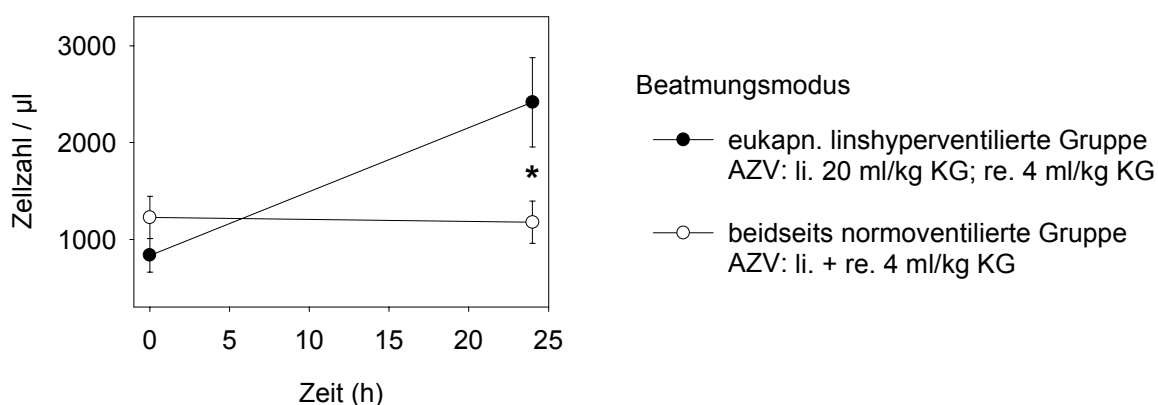


Abbildung 20: Anzahl neutrophiler Granulozyten im Blut der Tiere zu Versuchsbeginn und 24 Stunden nach Beatmungsbeginn in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus
 *($p < 0,05$) linkshyperventilierte Gruppe versus beidseits normoventilierte Gruppe

Zu Beginn der Beatmung ist die Anzahl neutrophiler Granulozyten in beiden Gruppen gleich groß.

Zum Zeitpunkt 24 Stunden nach Beatmungsbeginn hat sich die Anzahl der neutrophilen Granulozyten im Blut der linkshyperventilierten Tiere um das ca. 1,5 - fache im Vergleich zum Ausgangswert erhöht ($p < 0,05$).

In der Gruppe der beidseits normoventilierten Tiere hat sich die Neutrophilenzahl im Blut im Vergleich zum Ausgangswert nicht signifikant verändert.

3.2.6. Anzahl neutrophiler Granulozyten in der BAL 24 Stunden nach Beatmungsbeginn

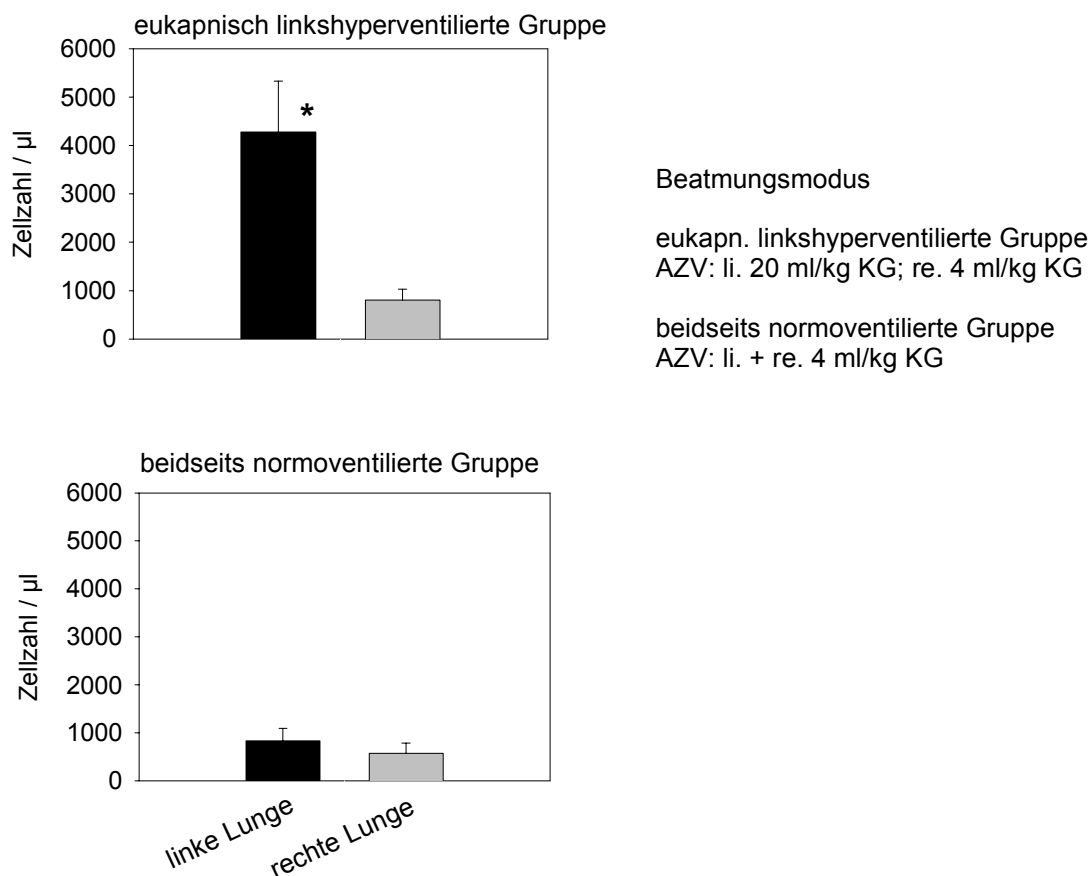


Abbildung 21: Anzahl neutrophiler Granulozyten in der BAL der Tiere, 24 Stunden nach Beatmungsbeginn, in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus
 *($p < 0,01$) linke Lunge versus rechte Lunge

In der Gruppe der linkshyperventilierten Tiere ist 24 Stunden nach Beatmungsbeginn die Neutrophilenzahl der BAL der linken (hyperventilierten) Lunge signifikant um das ca. 5-fache erhöht im Vergleich zur rechten, normoventilierten Lunge ($p < 0,05$).

In der beidseits normoventilierten Gruppe unterscheiden sich die Neutrophilenzahlen der BAL der linken und rechten Lunge 24 Stunden nach Beatmungsbeginn nicht signifikant voneinander.

Die Lavage-Neutrophilenzahl der rechten Lunge in der linkshyperventilierten Gruppe entspricht nach 24 Stunden der Anzahl in der beidseits normoventilierten Gruppe.

3.2.7. IL-6- und TNF- α -Konzentrationen im Serum 24 Stunden nach Beatmungsbeginn

IL-6-Konzentration:

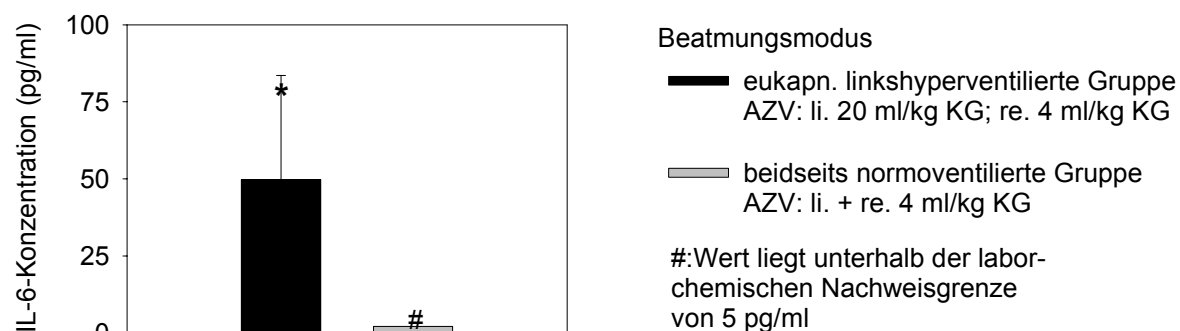


Abbildung 22: IL-6-Konzentration im Serum der Tiere 24 Stunden nach Beatmungsbeginn in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus

*($p < 0,01$) linkshyperventilierte Gruppe versus beidseits normoventilierte Gruppe

In der linkshyperventilierten Gruppe ist 24 Stunden nach Beatmungsbeginn die IL-6-Konzentration im Serum signifikant erhöht. In der Gruppe der beidseits normoventilierten Tiere liegt die IL-6-Konzentration im Serum nach 24 Stunden unterhalb der laborchemischen Nachweisgrenze.

TNF- α -Konzentration:

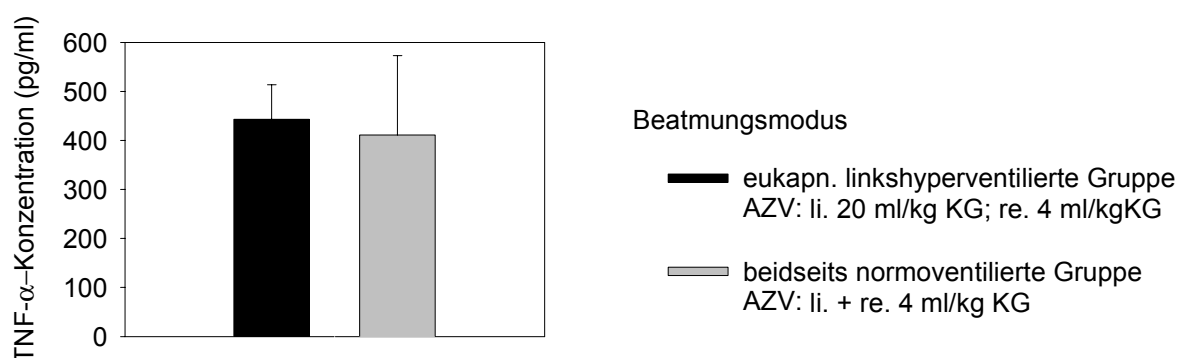


Abbildung 23: TNF- α - Konzentration im Serum der Tiere 24 Stunden nach Beatmungsbeginn in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus

In beiden Gruppen ist 24 Stunden nach Beatmungsbeginn eine erhöhte TNF- α -Konzentration im Serum nachweisbar. Dieser Wert war in beiden Gruppen gleich groß.

3.2.8. IL-6-Konzentration in der BAL 24 Stunden nach Beatmungsbeginn

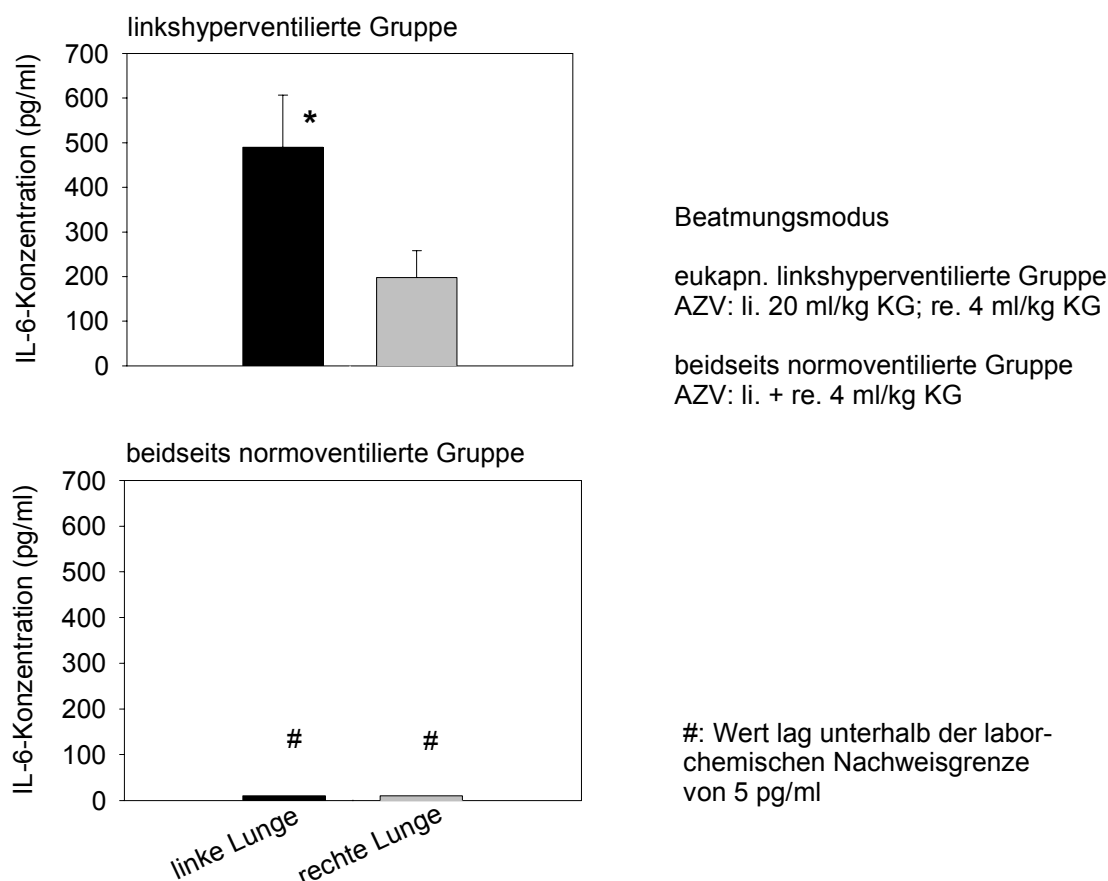


Abbildung 24: IL-6 - Konzentration in den BAL der Tiere 24 Stunden nach Beatmungsbeginn in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus

*($p < 0,01$) linke Lunge versus rechte Lunge

Die IL-6-Konzentration in der BAL 24 Stunden nach Beatmungsbeginn ist in der linken Lunge der linkshyperventilierten Tiere signifikant um das 2-fache im Vergleich zur rechten Lunge erhöht ($p < 0,01$). In der beidseits normoventilierten Gruppe liegt die IL-6-Konzentration in beiden Lungen nach 24 Stunden unterhalb der laborchemischen Nachweisgrenze.

3.2.9. TNF- α -Konzentration in der BAL 24 Stunden nach Beatmungsbeginn

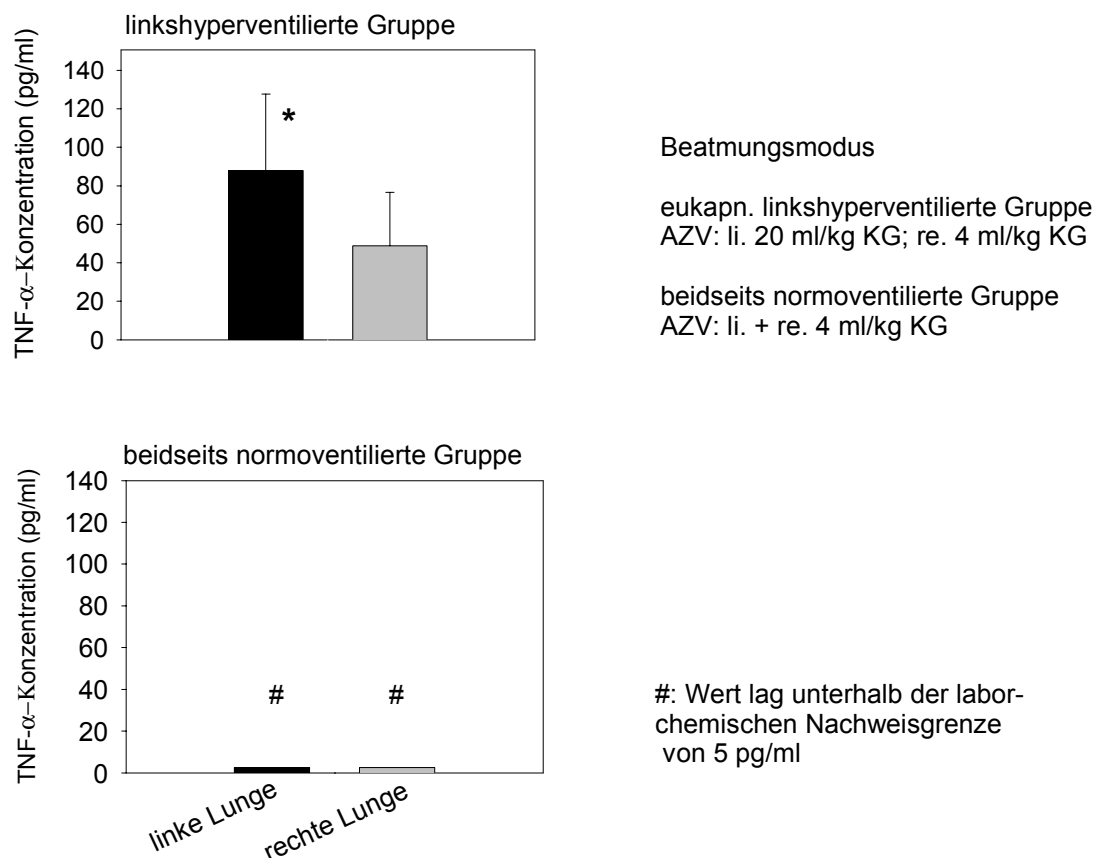


Abbildung 25: TNF- α -Konzentration in der BAL der Tiere 24 Stunden nach Beatmungsbeginn in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus
 *($p < 0,05$) linke Lunge versus rechte Lunge

24 Stunden nach Beatmungsbeginn ist die TNF- α -Konzentration in der BAL der linken Lunge der linkshyperventilierten Tiere im Vergleich zur rechten Lunge signifikant erhöht ($p < 0,05$). In beiden Lungen der beidseits normoventilierten Tiere liegt die TNF- α -Konzentration nach 24 Stunden unterhalb der laborchemischen Nachweisgrenze.

3.2.10. Proteinkonzentration in der BAL 24 Stunden nach Beatmungsbeginn

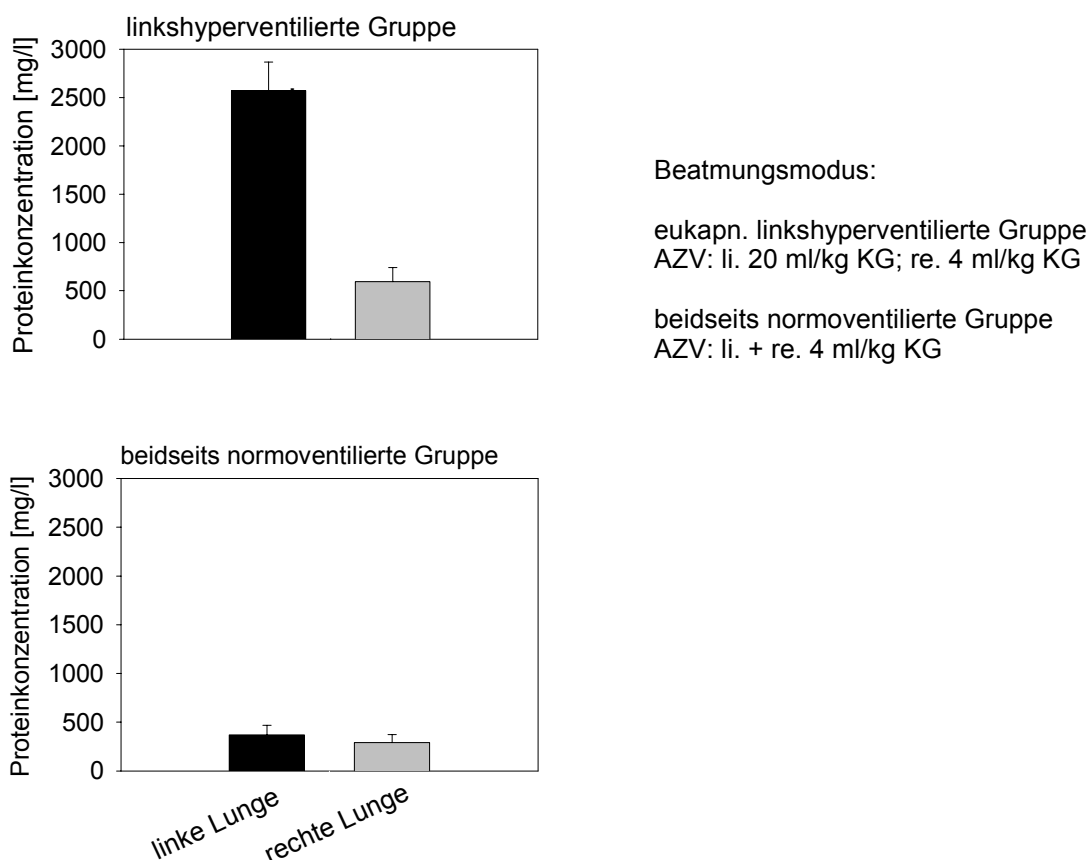


Abbildung 26: IL-6-Konzentration in der BAL der Tiere 24 Stunden nach Beatmungsbeginn in Abhängigkeit vom Beatmungsmodus
*($p < 0,01$) linke Lunge versus rechte Lunge

In der Gruppe der linkshyperventilierten Tiere ist 24 Stunden nach Beatmungsbeginn die Proteinkonzentration der BAL in der linken (hyperventilierten) Lunge um das ca. 5-fache im Vergleich zur rechten (normoventilierten) Lunge signifikant erhöht ($p < 0,01$).

In den BAL der beidseits normoventilierten Tiere gibt es nach 24 Stunden keine signifikanten Unterschiede in den Proteinkonzentrationen beider Lungen. In dieser Gruppe liegen die Werte gering unterhalb der Proteinkonzentration der rechten (normoventilierten) Lunge der linkshyperventilierten Tiere.

4. Diskussion:

4.1. Kurzzeitstudie

In unserer Studie haben wir zwei Modelle des ventilatorinduzierten Lungenversagens etabliert, mit denen es möglich ist, sowohl frühe als auch späte Auswirkungen einer Beatmung mit hohem Atemzugvolumen an einem lebenden Organismus zu untersuchen. Das Besondere und Neue an diesem Modell ist die Tatsache, daß alle Versuche in vivo und über eine längere Zeitdauer durchgeführt wurden. Bislang gibt es verschiedene Studien zum ventilatorinduzierten Lungenversagen. Entweder bedienten sich diese Ex-vivo-Modellen, die Schädigungen an isolierten Lungen untersuchten, oder die Dauer des Versuches war zu kurz, um detailliertere Aussagen zum Charakter der Veränderungen zu treffen.

Im Kurzzeitversuch haben wir festgestellt, daß die eukapnische Hyperventilation der Ratten innerhalb von 4 Stunden zu einem signifikanten Abfall des PaO_2 , zu einer Erhöhung der Gesamtproteinmenge in der Lunge und zur Entwicklung eines Lungenödems führt. Histologisch wurden nach der Beatmung schwere Lungenschädigungen bei den hyperventilierten Tieren sichtbar. Die statische Compliance des respiratorischen Systems war nach 4 Stunden bei den hyperventilierten Tieren im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant vermindert. Wir konnten weiterhin zeigen, daß die 4-stündige Beatmung mit hohem Atemzugvolumen zu einer vermehrten Emigration von neutrophilen Granulozyten sowie zu erhöhten Konzentrationen von inflammatorischen Mediatoren ($\text{TNF-}\alpha$, IL-6) in der Lungenlavage (BAL) führt.

Bei den hyperventilierten Tieren kam es bereits nach 2,5 Stunden zu einem signifikanten Abfall des PaO_2 im Vergleich zu den normoventilierten Tieren. Alle hyperventilierten Tiere entwickelten innerhalb des 4-stündigen Versuchszeitraumes ein Lungenödem, während ein solches in der normoventilierten Gruppe bei keinem der Tiere zu beobachten war. Dreyfuss et al konnten zeigen, daß sich ein Lungenödem bei Beatmung mit hohen Atemzugvolumina ($V_T = 45 \text{ ml/kg KG}$) bereits nach nur 5-20 min entwickelt.²⁹ Dieses Lungenödem manifestierte sich unabhängig davon, ob mit positivem oder negativem Druck beatmet wurde, was bestätigt, daß

hohe Atemzugvolumina und nicht der Beatmungsdruck für die Schädigungen verantwortlich sind.⁷ Das in unserem Modell beobachtete Lungenödem ist sehr wahrscheinlich Ausdruck einer Schädigung der alveolokapillären Membran, die zu einer Permeabilitätszunahme für verschiedene Moleküle führt. Dies äußert sich bei den hyperventilierten Tieren in einer signifikant höheren Proteinkonzentration der Lungenlavage nach der Beatmung als bei den normoventilierten Tieren. Dreyfuss et al zeigten, daß die erhöhte Proteinkonzentration der Bronchiallavage maßgeblich durch Veränderungen der Permeabilität der alveolokapillären Strukturen in der Lunge zustande kommt und nicht durch Veränderungen des hydrostatischen Druckes.⁴

Nach 4 Stunden war die statische Compliance der Lunge der hyperventilierten Tiere signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe. Diese Beobachtung konnten auch andere Untersuchungen an isolierten nicht-perfundierten Lungen bestätigen: Chiumello et al zeigten bei Ratten, daß es während einer 4-stündigen Beatmung mit hohem Atemzugvolumen zu einer signifikant verminderten Compliance der Lunge dieser Tiere im Vergleich zu einer mit moderatem Volumen über die gleiche Zeitdauer beatmeten Kontrollgruppe kam.³⁰ Tremblay et al beatmeten isolierte Lungen von Ratten für 2 Stunden mit Volumina von 7 ml/kg KG und 40 ml/kg KG. Die hyperventilierten Lungen hatten nach 2 Stunden eine signifikant niedrigere Compliance als die normoventilierten.³¹ Diese Versuche verdeutlichen, daß die Beatmung mit hohen Atemzugvolumina für die Verminderung der Compliance des respiratorischen Systems verantwortlich ist. Die Compliance-Verminderung entsteht einerseits durch das alveoläre Ödem und die damit verbundene Abnahme der beatmbaren Alveolen. Andererseits können Atelektasen und interstitielles Ödem auch die Compliance der noch belüfteten Alveolen vermindern. Bei der histologischen Untersuchung stellten sich in den hyperventilierten Lungen ödematöse Bereiche und Destruktionen der Alveolen dar, sowie Infiltrate neutrophiler Granulozyten, die insgesamt inhomogen und unterschiedlich stark in der Lunge ausgeprägt waren. Die Compliance der Lunge wird aber auch maßgeblich durch die Oberflächenspannung der Alveolen bestimmt.

Einen wesentlichen Einfluß auf die Oberflächenspannung und somit auf die Compliance der Lunge hat der Surfactant. Er spielt nicht nur eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der Oberflächenspannung, sondern besitzt auch eine

antiinflammatorische und permeabilitätsstabilisierende Wirkung. Eine Inaktivierung dieses oberflächenaktiven Filmes kann durch eine Akkumulation von Plasmaproteinen und das Vorhandensein von Oxidantien und Zytokinen in der Lunge entstehen.³² Die Akkumulation von Plasmaproteinen kommt durch die beschriebenen Veränderungen der Permeabilität zustande. Die Oxidantien und Zytokine sind zu einem erheblichen Teil Produkte eingewanderter neutrophiler Granulozyten und Makrophagen.^{33;34} Nachdem es zur Surfactantinaktivierung gekommen ist, können Plasmaproteine erleichtert in die Lunge übertreten, was zur weiteren Surfactantinaktivierung führt. Dieser circulus vitiosus ist auch bei Patienten mit ARDS von Bedeutung.^{35;28}

Ito et al untersuchten in einem Modell an Ratten die Auswirkungen einer Beatmung mit hohen Atemzugvolumina auf die Surfactantinaktivierung. Den Ratten wurden während der Beatmung Surfactantaggregate in die Lunge instilliert. Als Kontrolle diente eine Gruppe, die mit moderatem Volumen beatmet wurde. Bei den mit hohem Volumen beatmeten Ratten wurden die Surfactantaggregate verstärkt inaktiviert, was bei den hyperventilierten Tieren auch zu deutlich schlechteren PaO_2 -Werten führte.³⁶ Diese Studie verdeutlicht, daß die Beatmung mit hohem Atemzugvolumen zur Inaktivierung von Surfactant und damit verbundenen Gasaustauschstörungen führen kann.

Wir haben in unserer Studie die Kinetik des Surfactants nicht untersucht. Die hohe Konzentration an Protein in der Lunge der hyperventilierten Tiere sowohl der Kurzzeit- als auch der Langzeitstudie deutet jedoch darauf hin, daß Plasmaproteine in die Lunge gelangt sind. Somit ist auch bei unserem Versuch mit einer Surfactantinaktivierung zu rechnen. Dies wäre eine weitere Erklärung für die Verminderung der statischen Compliance bei den Lungen der hyperventilierten Tiere.

In unserer Studie konnten wir anhand verschiedener Parameter darstellen, daß sich durch die Beatmung bei den Ratten eine inflammatorische Reaktion entwickelte. Die Zahl neutrophiler Granulozyten im Blut war nach der 4-stündigen Beatmung in beiden Gruppen auf das 3-fache des Ausgangswertes angestiegen. Die $\text{TNF-}\alpha$ -Konzentration war im Serum der hyperventilierten Tiere signifikant höher als bei den normoventilierten Tieren. Im Serum beider Gruppen war die

IL-6-Konzentration erhöht. Die Lungenlavage der hyperventilierten Tiere enthielt signifikant höhere Neutrophilenzahlen und IL-6- sowie TNF- α -Konzentrationen als die der normoventilierten Tiere. Einige experimentelle Modelle zum ventilatorinduzierten Lungenversagen konnten eindrucksvoll darstellen, daß mechanische Ventilation zur Aktivierung inflammatorischer Zellen und löslicher Mediatoren führt.³⁵ Bei Kaninchen, die mit hohem Atemzugvolumen beatmet wurden, fanden sich eine deutliche Emigration von neutrophilen Granulozyten in die Lunge und erhöhte Konzentrationen von TNF- α , Thromboxan-B2 und Platelet Activating Factor in der Lungenlavage.^{37;38;26;39} Tremblay et al konnten in einem Ex-vivo-Modell ebenfalls erhöhte Konzentrationen von IL-6, TNF- α , IL-1 β und MIP-2 (einem Zytokin der IL-8-Familie) in der Lavage isolierter Lungen von Ratten nachweisen, die 2 Stunden mit einem Volumen von 40 ml/kg KG hyperventiliert wurden. Sogar in der mit 15 ml/kg KG normoventilierten Kontrollgruppe kam es in der Bronchiallavage zu Konzentrationsanstiegen von IL-6 und TNF- α .²⁸

Für eine bedeutende Rolle der inflammatorischen Reaktion in der Pathogenese des ventilatorinduzierten Lungenversagens sprechen eine Reihe von Studien: Kawano et al konnten zeigen, daß eine beatmungsinduzierte Gasaustauschstörung bei Tieren durch Neutrophilen-Depletion fast vollständig verhindert werden konnte.²⁵ Imai et al beatmeten Kaninchen über eine Dauer von 4 Stunden, währenddessen bei einer Gruppe der Tiere Anti-TNF- α -Antikörper über die Trachea in die Lungen instilliert wurden. Es zeigte sich, daß die mit dem Antikörper behandelten Tiere eine deutlich bessere Oxygenierung des Blutes, eine bessere Compliance des respiratorischen Systems und eine deutlich verminderte Neutrophilenmigration in die Lunge aufwiesen, als die nicht mit dem Antikörper behandelten Tiere.⁴⁰ Diese beiden Studien verdeutlichen, daß eine Hemmung der inflammatorischen Reaktion, bei der einerseits neutrophile Granulozyten andererseits Zytokine eine Schlüsselrolle spielen, zu einer Reduktion der beatmungsinduzierten Lungenschädigung führt.

In der hyperventilierten Gruppe unserer Studie war auch im Serum die TNF- α -Konzentration deutlich höher als in der Kontrollgruppe, was möglicherweise Ausdruck einer systemischen inflammatorischen Reaktion ist. Es gibt aber auch Studien bei denen man davon ausgeht, daß es durch die beatmungsinduzierte Barrierestörung der Lunge zur Freisetzung von in der Lunge kompartimentalisierten

Zytokinen in die Zirkulation kommt. Dieser „Verlust der Kompartimentalisierung“ spielt möglicherweise eine zentrale Rolle bei dem durch ein ARDS getriggertes Multiorganversagen und wurde von einigen Studiengruppen bereits mehrfach beschrieben.^{7;35;41-43} Bethmann et al zeigten in einem Ex-vivo-Modell, daß Hyperventilation isolierter Lungen von Mäusen zu einer Erhöhung der Konzentrationen von IL-6 und TNF- α in das Perfusat der Lungen führte.^{44;45} Meduri et al beobachteten in klinischen Studien erhöhte TNF- α - und IL-6-Konzentrationen in der Lungenlavage und im Serum von ARDS-Patienten.⁴⁶ Ranieri et al fanden deutlich niedrigere Serum- und Lungenlavagekonzentrationen von IL-6, IL-1 und TNF- α bei ARDS-Patienten, die einem lungenprotektiven Beatmungsmodus zugeteilt wurden, im Vergleich zu einer Gruppe, die mit höherem Volumen beatmet wurde.⁴⁷ Ob in unserem Versuch das im Serum der hyperventilierten Tieren erhöhte TNF- α aus der geschädigten Lunge freigesetzt wurde, kann durch unser Versuchsmodell nicht geklärt werden.

Da es in der Gruppe der hyperventilierten Tiere bereits nach 2,5 Stunden Beatmung zu einem signifikanten Abfall des PaO₂ kam, ist es sehr wahrscheinlich, daß bereits zu diesem frühen Zeitpunkt eine für den Gasaustausch relevante Schädigung der Lunge entstanden ist. Die von uns bei den hyperventilierten Tieren beobachteten massiven Permeabilitätsstörungen in der Lunge, Akkumulation von Lungenödem in den Alveolen, Verlust und Inaktivierung von Surfactant, Bildung von Atelektasen und deren negative Auswirkungen auf die Integrität der alveolokapillären Membran sind sehr wahrscheinlich für die Abnahme der PaO₂-Werte in dieser Gruppe verantwortlich. Diese strukturellen Veränderungen an der alveolokapillären Membran wurden zum Teil durch eine inflammatorische Reaktion verursacht und aufrechterhalten. Daß die von uns beobachteten Veränderungen schon nach sehr kurzer Beatmungsdauer zustande kommen können, haben Studien von Dreyfuss und Tremblay et al bestätigt.^{28;29}

4.2. Langzeitstudie

In diesem Versuch wurden die rechte und linke Lunge des Versuchstieres für die Dauer von 2 Stunden unabhängig voneinander beatmet, anschließend extubiert und nach 24 Stunden weiter untersucht. In der Studiengruppe wurde die linke Lunge hyperventiliert (durch Beatmung mit einem hohen schädigendem Atemzugvolumen, $V_T = 20$ ml/kg KG) während die rechte Lunge normoventiliert wurde ($V_T = 4$ ml/kg KG). In der Kontrollgruppe wurden beide Lungen über getrennte Tuben normoventiliert ($V_T = 4$ ml/kg KG). Bei den Tieren der Studiengruppe war während der gesamten Versuchsdauer der Blutdruck um ca. 10% niedriger als in der Kontrollgruppe. Es zeigten sich bei den Tieren der Studiengruppe 24 Stunden nach der Beatmung ein PaO_2 -Abfall und ein Anstieg der Neutrophilenzahlen im Blut. In der Kontrollgruppe kam es nach 24 Stunden zu keinem PaO_2 -Abfall und einem nur geringen Anstieg der Neutrophilenzahl im Blut.

In der Studiengruppe waren nach 24 Stunden sowohl die Lungenschädigung und die Zeichen einer Inflammation in der linken Lunge deutlich stärker ausgeprägt als in der rechten (normoventilierten) Lunge. In der Lavage der linken Lunge waren die Zahl neutrophiler Granulozyten und die Proteinkonzentration signifikant erhöht. Weiterhin zeigten sich in der Lavage der linken Lunge signifikant höhere Konzentrationen der Zytokine IL-6 und TNF- α als in der rechten Lunge.

In der Kontrollgruppe kam es nach 24 Stunden zu keinen Veränderungen an beiden Lungen: Bei den beidseits normoventilierten Tieren waren die Neutrophilenzahl sowie die Proteinkonzentration in der Lavage beider Lungen signifikant niedriger als in der linken Lunge der Studiengruppe. Innerhalb der beidseits normoventilierten Gruppe waren die Proteinkonzentration und Neutrophilenzahl in beiden Lungen gleich groß. Bei den beidseits normoventilierten Tieren lagen die Konzentrationen der Zytokine IL-6 und TNF- α in der Lavage beider Lungen unterhalb der laborchemischen Nachweisgrenze.

Der PaO_2 -Abfall nach 24 Stunden in der Studiengruppe spricht dafür, daß es bei diesen Tieren zu einer Lungenschädigung durch die Beatmung gekommen ist. Die beidseits normoventilierten Tiere zeigten nach 24 Stunden normale PaO_2 -Werte, was

gegen eine für den Gasaustausch relevante Schädigung in der Kontrollgruppe spricht. Die Tatsache, daß es sowohl in der Studien- als auch Kontrollgruppe nach der 2-stündigen Beatmung zu einem PaO_2 -Abfall gekommen ist, kann auf die Manipulationen am Respirationstrakt der Tiere während der Beatmung zurückgeführt werden. Außerdem war zu diesem Zeitpunkt in beiden Gruppen die Wirkung des Muskelrelaxans weitgehend abgeklungen, was eine Dyssynchronisation zwischen Tier und Respirator zur Folge hatte. Somit waren Beatmung und Gasaustausch zu diesem Zeitpunkt aus methodischen Gründen beeinträchtigt.

Bei den linkshyperventilierten Tieren zeigten sich nach 24 Stunden in der linken Lunge deutliche Anzeichen einer inflammatorischen Reaktion: In der Lavage der linken Lunge waren die Konzentrationen der Zytokine IL-6 und $\text{TNF-}\alpha$ sowie die Zahl neutrophiler Granulozyten im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht, was dafür spricht, daß die Hyperventilation der linken Lunge zu einer inflammatorischen Reaktion an dieser Lunge geführt hat.

Die Proteinkonzentration der Lavage der linken Lunge der Studiengruppe war nach 24 Stunden signifikant erhöht, was ein charakteristisches Anzeichen einer Permeabilitätsstörung der linken Lunge ist. Diese Permeabilitätsstörung, die zu einer Reduktion des Anteils belüfteter Alveolen führt, ist wahrscheinlich ein entscheidender Grund für die niedrigeren PaO_2 -Werte bei den Tieren der Studiengruppe nach 24 Stunden.

In der Kontrollgruppe konnten nach 24 Stunden keine relevanten Veränderungen des Gasaustausches und der Integrität der Lunge festgestellt werden: Der PaO_2 und die Neutrophilenzahl im Blut nach 24 Stunden entsprachen den Ausgangswerten zum Versuchsbeginn. In der Lavage beider Lungen der Kontrolltiere waren die Proteinkonzentration und die Neutrophilenzahl gleich groß, jedoch im Vergleich zur linken Lunge der Studiengruppe deutlich niedriger. Die Konzentrationen von IL-6 und $\text{TNF-}\alpha$ in der Lavage beider Lungen der Kontrolltiere lagen unterhalb der laborchemischen Nachweisgrenze. Die Normoventilation beider Lungen in der Kontrollgruppe hat keine relevante Schädigung der Lungen verursacht.

Bemerkenswert ist, daß sich auch in der rechten (normoventilierten) Lunge bei den Tieren der Studiengruppe Veränderungen zeigen. In der Lavage der rechten Lunge der Studiengruppe waren die Konzentrationen von IL-6 und TNF- α im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht. Eine mögliche Erklärung dafür ist, daß es zu einem direkten Übertritt von Zytokinen über den Bronchialbaum von der linken in die rechte Lunge gekommen ist. Es ist jedoch auch denkbar, daß die inflammatorische Reaktion in der linken geschädigten Lunge eine Inflammation in der rechten Lunge oder eine systemische Inflammation induziert, die zu einem Konzentrationsanstieg dieser Zytokine in der nicht geschädigten kontralateralen Lunge führt.

Für die Entwicklung einer systemischen Inflammation in der Studiengruppe nach 24 Stunden spricht die signifikant erhöhte Zahl neutrophiler Granulozyten im Blut und die signifikant erhöhte IL-6-Konzentration im Serum im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Wir konnten in der Langzeitstudie zeigen, daß in der Studiengruppe die Hyperventilation der linken Lunge bei gleichzeitiger Normoventilation der rechten Lunge nach 24 Stunden zu einer Verschlechterung der Oxygenierung führt. Dies ist Ausdruck einer ventilatorinduzierten Schädigung der linken Lunge, die in Permeabilitätsstörungen der hyperventilierten Lunge resultiert. Außerdem führte die Hyperventilation der linken Lunge bei den Tieren der Studiengruppe zu einer Inflammation in der linken Lunge und zu einer systemischen inflammatorischen Reaktion. In der Kontrollgruppe kam es weder zu maßgeblichen lokalen oder systemischen Veränderungen durch die Beatmung.

4.3. Vergleich der Ergebnisse der Kurzzeitstudie und Langzeitstudie

Vergleicht man die Ergebnisse der Kurzzeitstudie und der Langzeitstudie, so zeigt sich, daß sich eine lokale Inflammation in den hyperventilierten Lungen beider Gruppen entwickelt, während sich eine ausgeprägte systemische inflammatorische Reaktion nach 24 Stunden nur in der linkshyperventilierten Gruppe zeigt. In der normoventilierten Gruppe der Kurzzeitstudie waren zwar unmittelbar nach der 4-stündigen Beatmung die Neutrophilenzahl und die IL-6-Konzentration im Blut erhöht, was für eine systemische inflammatorische Reaktion spricht. In der beidseits normoventilierten Gruppe der Langzeitstudie entsprach jedoch die Neutrophilenzahl

im Blut nach 24 Stunden dem Ausgangswert, eine deutlich erhöhte IL-6-Konzentration im Serum war bei diesen Tieren nach 24 Stunden ebenfalls nicht nachweisbar. Obwohl also in der normoventilierten Gruppe der Kurzzeitstudie nach 4 Stunden Anzeichen einer systemischen Inflammation bestehen, sind diese in der beidseits normoventilierten Gruppe nach 24 Stunden nicht nachweisbar. Dies spricht dafür, daß eine systemische inflammatorische Reaktion nach 24 Stunden nur dann nachweisbar ist, wenn eine Schädigung der Lunge stattgefunden hat, die auch 24 Stunden nach der Beatmung noch persistiert. Diese Lungenschädigung hat bei den normoventilierten Tieren sowohl der Kurzzeit- als auch der Langzeitstudie nicht stattgefunden. Wir führen die bei den normoventilierten Tieren der Kurzzeitstudie nach 4 Stunden Beatmung beobachtete systemische inflammatorischen Reaktion auf die Invasivität unseres Versuches zurück.

Unsere Ergebnisse stehen teilweise im Widerspruch zu anderen Studien: Dreyfuss et al beatmeten Ratten mit einem Atemzugvolumen von 42 ml/kg für 2 Stunden.⁴⁸ Die Tiere entwickelten nach 2 Stunden ein schweres Lungenödem und wiesen erhöhte Proteinkonzentrationen in der Bronchiallavage auf. Die bronchoalveoläre Lavage enthielt allerdings kein TNF- α und nur gering erhöhte Konzentrationen anderer Zytokine (IL-1 β und MIP-2 (macrophage inflammatory protein)). Die systemischen Zytokinkonzentrationen lagen in der Studie von Dreyfuss nach 2 Stunden Hyperventilation unterhalb der laborchemischen Nachweisgrenze. In unseren zwei Modellen des ventilatorinduzierten Lungenversagen hingegen war die Zytokinkonzentration nach der Beatmung lokal in der Lunge sowie systemisch deutlich erhöht. Dies kann mit der längeren Beatmungs- und Beobachtungsdauer unserer Studie erklärt werden. Unsere In-vivo-Studien bestätigen somit die in vitro erhobenen und von anderen Autoren in Zweifel gezogenen Ergebnisse von Tremblay et al und zeigen, daß Beatmung mit hohen Atemzugvolumina zu einer lokalen aber auch systemischen Freisetzung von Zytokinen führt.

5. Zusammenfassung

Die mechanische Ventilation ist ein Bestandteil der etablierten Therapiekonzepte der Intensivmedizin. Sie gewährleistet einen suffizienten Gasaustausch, ist aber nicht frei von gravierenden Nebenwirkungen. Die mechanische Ventilation kann eine bestehende Lungenschädigung verschlechtern oder sogar ein Lungenversagen hervorrufen. Besonders bei Patienten mit bestehender systemischer inflammatorischer Reaktion können die schädigenden Wirkungen einer Beatmung entscheidend deren Prognose beeinflussen.

Studien der vergangenen Jahre haben hohe Beatmungsdrücke für das ventilatorinduzierte Lungenversagen verantwortlich gemacht. Aktuelle Studien sprechen jedoch dafür, daß nicht die hohen Drücke sondern die hohen Beatmungsvolumina einen wichtigen Faktor bei der Pathogenese des ventilatorinduzierten Lungenversagens darstellen.

Um die Auswirkung der Beatmung mit hohem Atemzugvolumen zu untersuchen, haben wir zwei tierexperimentelle Modelle des ventilatorinduzierten Lungenversagens etabliert. Wir haben für diese Untersuchung die Ratte als Versuchstier ausgewählt, weil ihre Thoraxelastizität die Gabe von hohen Atemzugvolumina bei niedrigen Beatmungsdrücken ermöglicht.

In einer Kurzzeitstudie wurden die Tiere über die Dauer von 4 Stunden entweder mit moderatem (8 ml/kg KG) oder mit hohem (40 ml/kg KG) Volumen beatmet. Relevante kardiopulmonale Messwerte wurden während und im Anschluß an die Beatmung erhoben.

In der Langzeitstudie wurden zwei Gruppen von Tieren für 2 Stunden beatmet, anschließend extubiert und erst nach 24 Stunden abschließend untersucht. Bei den Tieren der Studiengruppe wurden über getrennte Tuben jeweils unterschiedliche Atemzugvolumina in beide Lungen appliziert: die linke Lunge wurde mit hohem Volumen (20 ml/kg KG) und die rechte Lunge mit moderatem Volumen (4 ml/kg KG) beatmet. Bei den Tieren der Kontrollgruppe wurden beide Lungen über getrennte Tuben mit dem gleichen moderatem Atemzugvolumen (4 ml/kg KG) beatmet.

In der Kurzzeitstudie führte die Beatmung mit hohem Volumen nach 4 Stunden zu diffusen, histologisch verifizierbaren Schäden am Lungengewebe und der PaO_2 und die statische Compliance der Lunge nahmen ab. Die Beatmung mit hohem Atemzugvolumen führte zu einer vermehrten Migration von neutrophilen Granulozyten in die Lunge und zu einer Steigerung der Konzentrationen von $\text{TNF-}\alpha$ und IL-6 in der Bronchiallavage. Auch im Serum dieser Tiere war die $\text{TNF-}\alpha$ -Konzentration nach 4 Stunden im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht.

In der Langzeitstudie führte die einseitige Beatmung mit hohem Atemzugvolumen innerhalb von 24 Stunden zu einem PaO_2 -Abfall und zu einem Anstieg der Neutrophilenzahlen im Blut. Im Gegensatz zu der rechten „normoventilierten“ Lunge zeigte die linke „hyperventilierte“ Lunge deutliche Anzeichen der Lungenschädigung und einer Inflammation. In der Lavage der linken Lunge waren die Zahl neutrophiler Granulozyten, die Proteinkonzentration sowie die Konzentration der Zytokine $\text{TNF-}\alpha$ und IL-6 signifikant erhöht. Im Serum der linkshyperventilierten Tiere waren außerdem die Konzentrationen von $\text{TNF-}\alpha$ und IL-6 signifikant erhöht. In der beidseits normoventilierten Kontrollgruppe kam es nach 24 Stunden zu keinem PaO_2 -Abfall. Die Neutrophilenzahl im Blut entsprach dem Ausgangswert vor der Beatmung. Die Zytokinkonzentrationen waren in der Lungenlavage unterhalb der laborchemischen Nachweisgrenze.

Unsere Studie zeigt, daß die Beatmung mit hohem Atemzugvolumen zu einer direkten Schädigung und Funktionseinschränkung der Lunge führt. Die begleitende inflammatorische Reaktion bleibt nicht auf die Lunge begrenzt, sondern führt zu einer systemischen inflammatorischen Reaktion. Somit kann eine durch unsachgemäße Beatmung geschädigte Lunge zum Motor eines Multiorganversagens werden.

Literaturverzeichnis:

1. Brower RG, Fessler HE: Mechanical ventilation in acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Clin.Chest Med.*, 2000, **21**: 491-510.
2. dos Santos CC, Slutsky AS: Mechanotransduction, ventilator-induced lung injury and multiple organ dysfunction syndrome. *Intensive Care Med.*, 2000, **26**: 638-642.
3. Weg JG, Anzueto A, Balk RA, Wiedemann HP, Pattishall EN, Schork MA, Wagner LA: The relation of pneumothorax and other air leaks to mortality in the acute respiratory distress syndrome. *N.Engl.J.Med.*, 1998, **338**: 341-346.
4. Dreyfuss D, G.Basset, P.Soler, G.Saumon: High inflation pressure pulmonary edema: respective effects of high airway pressure, high tidal volume, and positive end-expiratory pressure. *Am.Rev.Respir.Dis.*, 1988, **137**: 1159-1164
5. Hernandez L.A., K.J.Peevy, A.A.Moise, J.C.Parker: Chest wall restriction limits high airway pressure-induced lung injury in young rabbits. *J.Appl.Physiol.*, 1989, **66**: 2364-2368.
6. Mead J, T.Takishima, D.Leith: Stress distribution in lungs: a model pulmonary elasticity. *J.Appl.Physiol.*, 1970, **28**: 596-608.
7. Dreyfuss D, Saumon G: Ventilator-induced lung injury: lessons from experimental studies. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.*, 1998, **157**: 294-323.
8. Argiras EP, C.R.Blakeley, M.S.Dunnill, S.Otremski, M.K.Sykes: High PEEP decreases hyaline membrane formation in surfactant deficient lungs. *Br.J.Anaesth.*, 1987, **59**: 1278-1285.
9. Liu M, j.Xu, J., Liu, M.E.Kraw, A.K.Tanswell, M.Post: Mechanical strain-enhanced fetal lung cell proliferation is mediated by phospholipases C and D and protein kinase C. *Am.J.Physiol.*, 2000, **268**: 729-738.

10. Rannels DE: Role of physical forces in compensatory growth of the lung.
Am.J.Physiol., 1989, **257**: 179-189.
11. dos Santos CC, Slutsky AS: Invited review: mechanisms of ventilator-induced lung injury: a perspective. *J.Appl.Physiol.*, 2000, **89**: 1645.-55.
12. Donnelly SC, C.Haslett: Cellular mechanisms of acute lung injury: implication for future treatment of the adult respiratory distress syndrome. *Thorax*, 1992, **47**: 260-263.
13. Imanaka H, Shimaoka M, Matsuura N, Nishimura M, Ohta N, Kiyono H: Ventilator-induced lung injury is associated with neutrophil infiltration, macrophage activation, and TGF-beta 1 mRNA upregulation in rat lungs. *Anesth.Analg.*, 2001, **92**: 428.-36.
14. Bachofen H, S.Schürch, R.P.Michel, E.R.Weibel: Experimental hydrostatic pulmonary edema in rabbit lungs: morphology. *Am.Rev.Respir.Dis.*, 2000, **147**: 989-996.
15. Bachofen H, S.Schürch, E.R.Weibel: Experimental hydrostatic pulmonary edema in rabbit lungs: barrier lesions. *Am.Rev.Respir.Dis.*, 2000, **147**: 997-1004.
16. West JB, K.Tsukimoto, O.Mathieu-Costello, R.Prediletto: Stress failure in pulmonary capillaries. *J.Appl.Physiol.*, 1991, **70**: 1731-1742.
17. Shirley HH, C.G.Wolfram, K.Wasserman, H.S.Mayerson: Capillary permeability to macromolecules: stretched pore phenomenon. *Am.J.Physiol.*, 2000, **190**: 189-193.
18. Fishman AP, G.G.Pietra: Hemodynamic pulmonary edema: In A.P.Fishman and E.M.Renkin, editors. Pulmonary Edema. Clinical Physiology Series. *American Physiological Society, Bethesda, MD.*, 1979, 76-96.
19. Muscedere JG, Mullen JB, Gan K, Slutsky AS: Tidal ventilation at low airway pressures can augment lung injury. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.*, 1994, **149**: 1327-1334.

20. Pison U, M.Max, A.Neuendank, S.Weibbach, S.Pietschmann: Host defense capacities of pulmonary surfactant: evidence for "non-surfactant"-functions of the surfactant-system. *Eur.J.Clin.Invest.*, 1994, **24**: 586-599.
21. Geertsma MF, W.L.Teeuw, P.H.Nibbering, R.Van Furth: Activation of alveolar macrophages by native and synthetic collagen-like polypeptides. *Immunology*, 1994, **82**: 450-456.
22. Laskin DL, R.A.Soltys, R.A.Berg, D.Riley: Activation of alveolar macrophages by native and synthetic collagen-like polypeptides. *Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.*, 1994, **10**: 58-64,
23. Nathan CF: Neutrophil activation on biological surfaces. *J.Clin.Invest.*, 1987, **80**: 1550-1560,
24. Donnelly SC, MacGregor I, Zamani A, Gordon MW, Robertson CE, Steedman DJ, Little K, Haslett C: Plasma elastase levels and the development of the adult respiratory distress syndrome. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.*, 1995, **151**: 1428-1433.
25. Kawano T, S.Mory, M.Cybulsky, R.Burger, A.Ballin, E.Cutz, A.C.Bryan: Effect of granulocyte depletion in a ventilated surfactant-depleted lung. *J.Appl.Physiol.*, 1987, **62**: 27-33.
26. Imai Y, T.Kawano, K.Miyasaka, M.Takata, T.Imay, K.Okuyama: Inflammatory chemical mediators during conventional ventilation and during high frequency oscillatory ventilation. *Crit.Care Med.*, 1994, **150**: 1550-1554.
27. Rimensberger PC, Fedorko L, Cutz E, Bohn DJ: Attenuation of ventilator-induced acute lung injury in an animal model by inhibition of neutrophil adhesion by leumedins (NPC 15669). *Crit.Care Med.*, 1998, **26**: 548-555.
28. Tremblay L, Valenza F, Ribeiro SP, Li J, Slutsky AS: Injurious ventilatory strategies increase cytokines and c-fos m-RNA expression in an isolated rat lung model. *J.Clin.Invest.*, 1997, **99**: 944-952.

29. Dreyfuss D, G.Basset, P.Soler, G.Saumon: Intermittent Positive-Pressure Hyperventilation with High Inflation Pressures Produces Pulmonary Microvascular Injury in Rats. *Am.Rev.Respir.Dis.*, 1985, **132**: 880-884.
30. Chiumello D, Pristine G, Slutsky AS: Mechanical ventilation affects local and systemic cytokines in an animal model of acute respiratory distress syndrome. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.*, 1999, **160**: 109-116,
31. Tremblay LN, Slutsky AS: Ventilator-induced injury: from barotrauma to biotrauma. *Proc.Assoc.Am.Physicians.*, 1998, **110**: 482-488.
32. Repine JE: Scientific perspectives on adult respiratory distress syndrome. *The Lancet*, 1992, **339**: 466-472.
33. Swank DW, S.B.Moore: Roles of the Neutrophil and Other Mediators in Adult Respiratory Distress Syndrome. *Mayo Clin.Proc.*, 1989, **64**: 1118-1132.
34. Hallman M, Glumoff V, Ramet M: Surfactant in respiratory distress syndrome and lung injury. *Comp.Biochem.Physiol.A.Mol.Integr.Physiol.*, 2001, **129**: 287-294.
35. Slutsky AS, Tremblay LN: Multiple system organ failure. Is mechanical ventilation a contributing factor? *Am.J.Respir.Crit.Care Med.*, 1998, **157**: 1721-1725.
36. Ito Y, Veldhuizen RA, Yao LJ, McCaig LA, Bartlett AJ, Lewis JF: Ventilation strategies affect surfactant aggregate conversion in acute lung injury. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.*, 1997, **155**: 493-499.
37. Matsuoka T., T.Kawano, K.Miyasaka: Role of high-frequency ventilation in surfactant-depleted lung injury as measured by granulocytes. *J.Appl.Physiol.*, 1994, **76**: 539-544.
38. Sugiura M, P.R.Culloch, S.Wren, R.H.Dawson: Ventilator pattern influences neutrophil influx and activation in atelectasis-prone rabbit lung. *J.Appl.Physiol.*, 1994, **77**: 1355-1365.

39. Takata M, Abe J, Tanaka H, Kitano Y, Doi S, Kohsaka T, Miyasaka K:
Intraalveolar expression of tumor necrosis factor-alpha gene during
conventional and high-frequency ventilation. *Am.J.Respir.Crit.Care
Med.*, 1997, **156**: 272-279.
40. Imai Y, Kawano T, Iwamoto S, Nakagawa S, Takata M, Miyasaka K:
Intratracheal anti-tumor necrosis factor-alpha antibody attenuates
ventilator-induced lung injury in rabbits. *J.Appl.Physiol.*, 1999, **87**: 510-
515.
41. Tutor JD, Mason CM, Dobard E, Beckermann RC, Summer WR, Nelson S: Loss
of compartmentalization of alveolar tumor necrosis factor after lung injury.
Am.J.Respir.Crit.Care Med., 1994, **149**: 1107-1111.
42. Dreyfuss D, Saumon G: From ventilator-induced lung injury to multiple organ
dysfunction? [editorial]. *Intensive.Care Med.*, 1998, **24**: 102-104.
43. Haitsma JJ, Uhlig S, Goggel R, Verbrugge SJ, Lachmann U, Lachmann B:
Ventilator-induced lung injury leads to loss of alveolar and systemic
compartmentalization of tumor necrosis factor-alpha. *Intensive.Care
Med.*, 2000, **26**: 1515-1522.
44. von Bethmann AN, F.Brasch, K.Müller, A.Wendel, S.Uhlig: Prolonged
hyperventilation is required for release of tumor nekrosis factor-alpha but
not IL-6. *Appl.Cardiopulm.Pathophysiol.*, 2001, **6**: 171-177.
45. von Bethmann AN, F.Brasch, R.Nüsing, K.Vogt, D.Volk, K.M.Müller, A.Wendel,
S.Uhlig: Hyperventilation induces release of cytokines from perfused
mouse lung. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.*, 2001, **157**: 263-272
46. Meduri G, G.Kohler, S.Headley, E.Tolley, F.Stenz, A.Postlethwaite:
Inflammatory Cytokines in the BAL of Patients with ARDS. *Chest*, 1995,
108: 1303-1314.
47. Ranieri VM, Suter PM, Tortorella C, De Tullio R, Dayer JM, Brienza A, Bruno F,
Slutsky AS: Effect of mechanical ventilation on inflammatory mediators in
patients with acute respiratory distress syndrome: a randomized
controlled trial [see comments]. *JAMA*, 1999, **282**: 54-61.

48. Dreyfuss D, Ricard JD, Saumon G: Production of Inflammatory Cytokines in Ventilator-Induced Lung Injury: A Reappraisal. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.*, 2001, **163**: 1176-1180,

Lebenslauf

Angaben zur Person:

Name:	Christian Niemann
Wohnort:	Am Goldberg 5, 07747 Jena-Lobeda-Altstadt
Telefon:	03641-380457
Geburtstag:	6. Februar 1974
Geburtsort:	Jena
Familienstand:	ledig
Nationalität:	deutsch

Schulbildung:

September 1980 - Juni 1990

Besuch und erfolgreicher Abschluß der Oberschule in Jena

September 1990 - Juni 1992

Besuch und erfolgreicher Abschluß des Gymnasiums in Jena

Wehrersatzdienst:

November 1992 - Dezember 1993; Juli 1995 - August 1995

Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der FSU Jena

Berufsausbildung:

Oktober 1993 - Juli 1994

Studium der Rechtswissenschaft für 2 Semester an der FSU Jena

Oktober 1994 - Mai 2001

Studium der Humanmedizin an der FSU Jena

Mai 2001

3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

seit September 2001

Arzt im Praktikum an der Zentralklinik Bad Berka GmbH

Förderungen:

1999/2000

Loder-Stipendium des Fördervereins des Klinikums der Friedrich-Schiller-Universität Jena e.V., gestiftet von der Jenapharm GmbH

Jena, den 29. Dezember 2001, Christian Niemann

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, daß mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

Auswahl des Themas:

PD. Dr. med. W. Karzai, Klinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie der FSU Jena, seit Juni 2001 Chefarzt für den Fachbereich Anästhesie und Intensivmedizin der Zentralklinik Bad Berka GmbH

Auswertung des Materials:

Frau B. Schmidt, MTA an der FSU Jena,
Dr. med. Hartung, Universität Konstanz,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und daß Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

daß ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

daß ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, den 29. Dezember 2001, Christian Niemann

Danksagung

Ich danke Herrn PD. Dr. med. Waheedullah Karzai für die Überlassung des Themas dieser Dissertation, für die freundliche Einführung in die Methoden und für den ständigen Rat bei der Erstellung dieser Arbeit.

Ebenso danke ich Herrn Professor Dr. med. Konrad Reinhart für seine Unterstützung.

Für die freundliche und unermüdliche Hilfe, Rat und Tat bei der Einführung in die Labormethoden danke ich Frau Barbara Schmidt, MTA der Klinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie der FSU Jena im Institut für Versuchstierkunde. Weiterer Dank gebührt Herrn Dr. Hartung in Konstanz für seine Hilfe bei laborchemischen Untersuchungen.

Auch dem Förderverein des Klinikums der Friedrich-Schiller-Universität Jena e.V. sowie der Jenapharm GmbH möchte ich für die Unterstützung meiner Dissertation durch ein Forschungsstipendium danken.